



Vers la synthèse de la (-) - gymnodimine A et études de relations structure-activité du coeur spiroimine

Leslie Duroure

► To cite this version:

Leslie Duroure. Vers la synthèse de la (-) - gymnodimine A et études de relations structure-activité du coeur spiroimine. Autre. Université Paris Sud - Paris XI, 2011. Français. <NNT : 2011PA112206>. <tel-01374850>

HAL Id: tel-01374850

<https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-01374850>

Submitted on 2 Oct 2016

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



Orsay

N° d'ordre :

THÈSE DE DOCTORAT

présentée par

Leslie DUROURE

VERS LA SYNTHÈSE DE LA (-)-GYMNODIMINE A ET ÉTUDES DE RELATIONS STRUCTURE-ACTIVITÉ DU COEUR SPIROIMINE

pour l'obtention du grade de
DOCTEUR ès SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ PARIS-SUD 11
Spécialité Chimie Organique

Soutenance réalisée le lundi 17 octobre 2011 devant la Commission d'examen :

Mme. Laurence GRIMAUD • Chargé de Recherche au CNRS

Rapporteur

M. Philippe RENAUD • Professeur

Rapporteur

M. David AITKEN • Professeur

Examinateur

M. Jean RODRIGUEZ • Professeur

Examinateur

M. Jordi MOLGÓ • Directeur de Recherche au CNRS

Examinateur

Mme Catherine GUILLOU • Directeur de Recherche au CNRS

Directeur de thèse

M. Laurent CHABAUD • Chargé de Recherche au CNRS

Co-directeur de thèse



Orsay

N° d'ordre :

THÈSE DE DOCTORAT

présentée par

Leslie DUROURE

VERS LA SYNTHÈSE DE LA (-)-GYMNODIMINE A ET ÉTUDES DE RELATIONS STRUCTURE-ACTIVITÉ DU COEUR SPIROIMINE

pour l'obtention du grade de
DOCTEUR ès SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ PARIS-SUD 11
Spécialité Chimie Organique

Soutenance réalisée le lundi 17 octobre 2011 devant la Commission d'examen :

Mme. Laurence GRIMAUD • Chargé de Recherche au CNRS

Rapporteur

M. Philippe RENAUD • Professeur

Rapporteur

M. David AITKEN • Professeur

Examinateur

M. Jean RODRIGUEZ • Professeur

Examinateur

M. Jordi MOLGÓ • Directeur de Recherche au CNRS

Examinateur

Mme Catherine GUILLOU • Directeur de Recherche au CNRS

Directeur de thèse

M. Laurent CHABAUD • Chargé de Recherche au CNRS

Co-directeur de thèse

Remerciements

Merci est un terme court, qui en dit long, que j'aimerais exprimer à beaucoup de personnes aujourd'hui. Pour commencer, je remercie énormément le **Dr. Xavier Marat** (l'Oréal, Aulnay-Sous-Bois) et le **Dr. Florian Monnier** (ENSCM, Montpellier) que j'ai eu la chance de croiser sur mon chemin. Tous les deux, m'ont fait partager leur passion de la recherche et m'ont encouragé à poursuivre ma route vers le doctorat.

Grâce au **Dr. Catherine Guillou** et au **Dr. Laurent Chabaud**, j'ai eu le privilège d'évoluer à l'Institut de Chimie des Substances Naturelles, un laboratoire particulièrement reconnu dans le monde de la chimie organique française. Je remercie également le **Pr. Jean-Yves Lallemand**, ancien directeur de l'ICSN, qui a validé mon admission dans cet établissement prestigieux.

Je voudrais dire un grand merci à Catherine pour m'avoir donné la chance de travailler dans son laboratoire sur un projet intéressant et ambitieux. Pendant ses trois années, elle a su m'accorder de l'autonomie tout en restant à l'écoute et en me soutenant dans mes choix. Je retiendrais toutes ces astuces pratiques et ces conseils pour la vie de laboratoire ainsi que les anecdotes rigolotes qu'elle a partagées avec nous tous et qui rendent le quotidien toujours plus agréable.

Milles mercis à Laurent pour son encadrement journalier et pour ses précieux conseils. Sa patience et sa gentillesse m'ont permis d'apprendre énormément chaque jour et sa disponibilité et son investissement dans mon travail, m'ont permis de faire évoluer au mieux mon projet scientifique.

Je tiens à remercier le **Dr. Laurence Grimaud** et le **Pr. Philippe Renaud** pour avoir accepté de juger ce manuscrit. Je remercie également le **Pr. Jean Rodriguez**, le **Pr. David Aitken** et le **Dr. Jordi Molgò** pour me faire l'honneur de participer à ce jury.

En cet instant, il me paraît évident que ces trois années n'auraient pas été aussi enrichissantes sans les personnalités hautes en couleurs que j'ai pu croiser dans l'équipe. J'ai été accueilli avec le sourire, dans le laboratoire 218, par **Julien** qui vivait à l'époque ces derniers mois de thèse, mais qui a toujours su rester disponible et souriant. Le plus sportif des bretons était aussi là, et même si l'on travaillait souvent un peu en décalé, sa présence était toujours réconfortante. Merci **Christophe** pour ton aide, ton soutien et pour toutes les chansons mélodieuses que tu m'as fait découvrir ! Au cours de ma première année, j'ai aussi partagé les lieux avec **Cédric**. Sa force tranquille et sa bonne humeur, m'ont permis d'échanger avec lui de bons éclats de rire !

Dans le laboratoire 225, l'ambiance était tout aussi plaisante. Je voudrais dire un grand merci à **Elvina**, ma collègue africaine (bien qu'elle ressemble plus à une suédoise), pour nos petites pauses thés et nos rigolades. Merci aussi pour les synthèses de produits de départs sans lesquels je n'aurais pas avancé aussi vite. Je pense aussi à **Thierry** qui a initié le projet sur la gymnodimine et qui a toujours été disponible pour répondre à mes questions. Il a su me faire partager à la fois sa culture scientifique et sa joie de vivre quotidienne. Après son départ, j'ai eu la chance de rencontrer **Mélanie**, une personne pétillante et dynamique, qu'il était agréable de retrouver chaque jour pour travailler ou papoter autour d'un inopiné ! Cette année j'ai eu le plaisir de retrouver **Xavier** et de découvrir sa nature joyeuse et sympathique. J'aurais aimé lui tenir compagnie plus longtemps, mais trois années, qu'est ce que ça passe vite !

Je n'oublie pas les étudiants de master qui sont venus chaque année arpenter les couloirs de l'ICSN pour découvrir les joies de la recherche dans notre équipe : Anthony, Anne-Solenne, Sophie et Matt. J'ai aussi une pensée pour Carles et Nicole qui au cours de leurs échanges internationaux ont partagé avec nous leur culture respective.

Rien n'aurait été pareil sans mes deux colocataires. **Damien**, mon plus fidèle compère, a qui je contaïs chaque jour mes désillusions et mes satisfactions et qui savait m'écouter sans sourciller et **Ronan**, l'électron libre, qui malgré le fait qu'il a continuellement chaud, se devait d'être toujours en mouvement. Tous les moments partagés avec vous n'auront été que des instants de bonheur et une chose est certaine : vous allez me manquer !

Avec le Comité des Étudiants de l'ICSN, j'ai vécu une aventure extraordinaire. Le temps d'une année, nous avons formé une équipe soudée et volontaire pour agrémenter la vie de l'Institut. Puis nous avons eu la chance de continuer à partager de bons moments pendant les repas du mardi. Alors un grand merci à...

- ... **Cécile**, pour son écoute, sa gentillesse et ses bons petits plats
- ... **Victor**, mon allié de l'ENSCM, pour toutes nos discussions enrichissantes
- ... **Arnaud**, pour sa bonne humeur, ses blagues et ses discours endiablés
- ... **Julie**, pour son dynamisme et les soirées chant ou théâtre qu'elle nous a fait partager
- ... **Camille**, la gymnaste fort sympathique de la troupe
- ... **Mathilde**, pour nous avoir fait partager sa passion du rugby
- ... **Damien**, pour ce costume mémorable de chenille dans Alice au pays des Merveilles
- ... **Ronan**, pour le choix des chansons de nos supers soirées quizz
- ... **Pierre-Marie**, la force tranquille qui avait toujours une bricole à emprunter au labo
- ... **Guillaume**, le père-Noël
- ... **Delphine**, **Deepti** et **Emilie**

Nous avons la chance de partager nos repas du midi avec les membres des **équipes 45 et 48**. Je ne pourrais pas citer tout le monde, mais je me souviendrais de l'ambiance chaleureuse qui règnait pendant les déjeuners et les pique-niques. Je garde toutefois une place particulière pour **Jeremy**, le musicien attachant et pour **Claire**, le tourbillon d'énergie de l'équipe 45 et pour **Sylviane**, de l'équipe 48, pour toutes nos discussions toutes plus plaisantes les unes que les autres.

Ce travail n'aurait pas été possible sans les services communs de l'ICSN. Je souhaite remercier l'équipe d'HPLC, dirigée par Odile Thoison, pour leur accueil toujours très chaleureux, Jean-François Gallard toujours présent pour résoudre mes problèmes en RMN, et Nicolas Elie et Olinda Gimello pour leurs conseils en spectroscopie de masse et en LCMS. Je remercie aussi le service informatique, qui n'a jamais hésité à voler à mon secours, lorsque je me retrouvais face à des ordinateurs ou des imprimantes capricieuses.

Je remercie également toutes les personnes que j'ai pu croiser dans les couloirs de l'ICSN ou sur le campus du CNRS. Les sourires et les quelques phrases échangées permettent toujours d'égayer le quotidien.

Il ne me reste plus qu'à remercier mes proches, mes amis et ma famille, sans qui je n'aurais peut-être pas eu la force de m'engager puis de poursuivre ma route dans une telle aventure. Je pense à mes acolytes de Montpellier que j'ai eu le plaisir de revoir de nombreuses fois et qui ont toujours répondu présents lorsque j'ai eu besoin d'eux. J'ai une pensée aussi pour mes amis du 04, qui malgré la distance, ne m'ont pas oublié et que j'ai toujours autant de plaisir à retrouver lors de mes séjours dans le Sud-Est.

Les mots me manquent pour parler de ma famille. Je ne remercierais jamais assez mes parents, **Eric** et **Miriana**, qui ont toujours fait en sorte que je poursuive mes études dans les meilleures conditions possibles. Leurs soutiens et leurs encouragements m'ont toujours aidé à ne pas baisser les bras et à donner le meilleur de moi-même. Je souhaite également dire un grand merci à ma petite soeur **Elodie** pour s'être toujours inquiétée de mon bien-être à travers ses appels réguliers. Je terminerais en remerciant **Anthony**, pour sa présence de tous les instants, son appui dans les moments difficiles et sa bonne humeur contagieuse. Il me donne l'envie de me dépasser et de m'épanouir.

Le succès c'est d'aller d'échec en échec sans perdre son enthousiasme.

(Winston CHURCHILL)

Table des matières

Remerciements.....	5
Table des matières	9
Abréviations.....	15
Introduction générale.....	21

CHAPITRE 1 : LES PHYCOTOXINES DE LA FAMILLE DES SPIROIMINES : ISOLEMENT ET PROPRIETES BIOLOGIQUES 25

I. INTRODUCTION25

II. ISOLEMENT, STRUCTURE ET TOXICITE DES SPIROIMINES27

II. 1. Les gymnodimines	27
II.1.1. Origine des toxines.....	27
II.1.2. Caractéristiques et structures des gymnodimines.....	27
II.1.3. Toxicité sur les souris.....	29
II.1.3.1 Toxicité aiguë par injection intrapéritonéale	29
II.1.3.2 Toxicité aiguë par administration orale.....	30
II. 2. Les spirolides	30
II.2.1. Origine des toxines.....	30
II.2.2. Caractéristiques et structures des spirolides.....	31
II.2.3. Toxicité sur les souris.....	32
II.2.3.1 Toxicité aiguë par injection intrapéritonéale	32
II.2.3.2 Toxicité aiguë par administration orale.....	33
II. 3. Les pinnatoxines.....	34
II.3.1. Origine des toxines.....	34
II.3.2. Caractéristiques et structures des pinnatoxines.....	34
II.3.3. Toxicité sur les souris.....	35
II.3.3.1 Toxicité aiguë par injection intrapéritonéale	35
II.3.3.2 Toxicité aiguë par administration orale.....	35
II. 4. Les ptériatoxines	36
II.4.1. Origine des toxines.....	36
II.4.2. Caractéristiques et structures des ptériatoxines.....	36
II.4.3. Toxicité sur les souris.....	37
II.4.3.1 Toxicité aiguë par injection intrapéritonéale	37
II.4.3.2 Toxicité aiguë par administration orale.....	37

III. DETECTION DES SPIROIMINES	38
III. 1. Méthodes de référence.....	38
III.1.1 Législation et méthodes officielles.....	38
III.1.2 Bioessais sur les souris.....	39
III.1.3 Bioessais sur les rats	40
III. 2. Développement de méthodes alternatives.....	40
III.2.1 Essais in vitro.....	40
III.2.2 Méthodes biochimiques	41
III.2.3 Méthodes chimiques	41
III. 3. Détection de la gymnodimine A et du 13-desmethylspirovide C par polarisation de fluorescence.....	43
 IV. LES RECEPTEURS NICOTINIQUES ET LE MODE D’ACTION DES SPIROIMINES	45
IV. 1. Cible présumée.....	45
IV. 2. Les récepteurs nicotiniques	46
IV.2.1 Découverte et études préliminaires sur les nAChRs.....	46
IV.2.2 Structure des nAChRs	47
IV.2.3 Distribution et expression des différents sous-types de récepteurs.....	48
IV.2.4 Mécanisme de fonctionnement.....	48
IV.2.5 Un modèle de choix : l'AChBP	51
IV. 3. Action de la gymnodimine	52
IV.3.1 Toxicité de la (-)-gymnodimine A.....	52
IV.3.2 Action sur des préparations de souris et grenouilles.....	52
IV.3.3 Blocage des récepteurs nicotiniques neuronaux et musculaires	53
IV.3.3.1 Blocage des récepteurs nicotiniques musculaires.....	53
IV.3.3.2 Blocage des récepteurs nicotiniques neuronaux.....	54
IV.3.3.3 Comparaison de deux spiroimines par électrophysiologie	54
IV.3.4 Etude de compétition avec des ligands marqués.....	55
 V. ETUDES DE BINDING ET DE CO-CRISTALLISATION	56
V. 1. Co-cristallisation de la gymnodimine avec l'AChBP.....	56
V. 2. Modélisation moléculaire et étude de binding	58
 VI. CONCLUSION	59

CHAPITRE 2 : LES PHYCOTOXINES DE LA FAMILLE DES SPIROIMINES : APPROCHES SYNTHETIQUES..... 63

I. HYPOTHESE BIOMIMETIQUE63

II. APPROCHES SYNTHETIQUES DES GYMNODIMINES.....65

- II. 1. Synthèse de spiroimines racémiques par Brimble *et al.*.....65
- II. 2. Approche énantiosélective de Kisch *et al.*66
- II. 3. Approche énantiosélective de Murai *et al.*67
- II. 4. Approche énantiosélective de White *et al.*.....68
- II. 5. Synthèse totale de la (-)-gymnodimine A par Romo *et al.*70

III. APPROCHES SYNTHETIQUES DES SPIROLIDES73

- III. 1. Approche énantiosélective de Zakarian *et al.*.....73
- III. 2. Approche énantiosélective de Brimble *et al.*.....75

IV. APPROCHES SYNTHETIQUES DES PINNATOXINES.....77

- IV. 1. Synthèses totales de Kishi *et al.*.....77
- IV. 2. Approches de Zakarian *et al.*.....78
 - IV.2.1. Par une cascade de réarrangements : Claisen et Mislow-Evans78
 - IV.2.2. Par le réarrangement d'Ireland-Claisen81
- IV. 3. Synthèse totale de Nakamura *et al.*.....82
- IV. 4. Synthèse formelle de Hiram *et al.*.....83
- IV. 5. Approche énantiosélective d'Evans *et al.*84

V. RESULTATS ANTERIEURS DU LABORATOIRE ET OBJECTIF DU PROJET.....85

- V. 1. Analyse rétrosynthétique globale86
- V. 2. Synthèse de motifs spiroimines.....87
- V. 3. Synthèse du fragment tétrahydrofuranne90
- V. 4. Études sur la réaction de Mukaiyama-Michael vinylogue91
- V. 5. Objectifs personnels92

CHAPITRE 3 : CRÉATION DU CENTRE QUATERNAIRE DU MOTIF SPIROIMINE PAR RÉACTION DE TSUJI-TROST..... 97

I. RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUES.....97

- I. 1. Historique de la réaction et principaux avantages97
- I. 2. Considérations mécanistiques.....99
- I. 3. Processus d'échantiosélection.....102
- I. 4. Conception et développement de ligands.....104

I. 5. Modèle de prédiction de l'induction asymétrique.....	105
I.5.1. Etape énantiodéterminante : l'ionisation	105
I.5.2. Etape énantiodéterminante : l'attaque du nucléophile.....	106
I. 6. Applications en synthèse totale de la réaction d'AAA.....	108
I.6.1. Synthèse totale de l'hamigeran B	108
I.6.2. Synthèse de la (–)-métazocine	109
I.6.3. Synthèse asymétrique de la (–)-nitramine	110
II. RESULTATS PERSONNELS ET DISCUSSION.....	111
II. 1. Analyse rétrosynthétique.....	111
II. 2. Étude de l'étape énantiosélective : l'AAA	112
II.2.1. Version racémique.....	112
II.2.2. Version énantiosélective et détermination des conditions optimales	113
II.2.3. Augmentation de l'excès énantiomérique par recristallisation.....	117
II.2.3.1. Formation de semicarbazones.....	117
II.2.3.2. Hydrolyses des semicarbazones	120
II.2.4. Motif cyclohexénone : Confirmation de la configuration absolue obtenue après AAA.....	121
II. 3. Synthèse de spiroimines modèles	121
II.3.1. Cible n°1 : Spiroimines porteuses de la fonction alcool	121
II.3.1.1. Séquence d'hydroboration/oxydation.....	121
II.3.1.1.1. Essais sur les cycles insaturés.....	123
II.3.1.1.2. Essais sur des substrats sans insaturation endocyclique	125
II.3.1.1.3. Hydroboration catalysée par le rhodium.....	126
II.3.1.2. Séquence métathèse croisée/oxydation.....	127
II.3.1.3. Clivage oxydatif et réduction du céto-aldéhyde.....	129
II.3.1.4. Obtention de la spirolactone	131
II.3.1.4.1 Sur le substrat porteur de l'insaturation 301	131
II.3.1.4.2 Sur le substrat saturé 235	132
II.3.1.5. Synthèse des spiroimines et comparaison des approches	133
II.3.2. Cible n°2 : Spiroimine porteuse d'une fonction acétal.....	134
II.3.2.1. Approche par hydroboration/oxydation et lactonisation.....	134
II.3.2.2. Approche par métathèse croisée/oxydation	135
II. 4. Synthèse de spiroimines fonctionnalisées.....	137
II.4.1. Analyse rétrosynthétique	137
II.4.2. Réactions de Tsuji-Trost sur des β -cétoesters fonctionnalisés	138
II.4.2.1 Préparation des synthons de départ	138
II.4.2.2 Etape d'alkylation allylique asymétrique	140
II.4.3. Fonctionnalisation et réactivité de l'énone	142
II.4.3.1 Réaction de Corey-Chaykovski sur les énonés 345 et 346	142
II.4.3.2 Essais d'addition-1,2 et élimination.....	143

III. CONCLUSION.....	144
----------------------	-----

CHAPITRE 4 : CRÉATION DU CENTRE QUATERNAIRE DU MOTIF SPIROIMINE PAR ALLYLATION DÉCARBOXYLANTE ASYMÉTRIQUE..... 149

I. RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUES.....	149
----------------------------------	-----

I.1. Historique de la réaction et principaux avantages et inconvénients.....	149
I.2. Régiosélectivité de la réaction	150
I.3. Alkylation décarboxylante asymétriques d'énolates catalysées par le palladium	151
1.3.1. À partir d'allyl énoles carbonates.....	152
1.3.1.1. Travaux de Stoltz.....	152
1.3.1.2. Travaux de Trost.....	153
1.3.2. À partir de β -cétoesters	154
1.3.2.1. Travaux de Stoltz.....	154
1.3.2.2. Travaux de Trost.....	155
I.4. Aspects mécanistiques.....	156
1.4.1. Etape d'ionisation ou d'addition oxydante	156
1.4.2. Etapes de décarboxylation et d'alkylation	157
1.4.2.1. Cas des β -cétoesters α , α' -disubstitués.....	157
1.4.2.2. Cas des β -cétoesters avec un hydrogène en position α	158
1.4.2.3. Cas des allyl énoles carbonates	159
I.5. Applications en synthèse totale.....	160
1.5.1. Synthèse du (+)-élatol par Stoltz.....	160
1.5.2. Synthèse de la (S)-oxybutynin par Trost.....	161
1.5.3. Synthèse de la spirotryprostatine B par Trost	161
1.5.4. Synthèse de la (+)-carrisonne et du (+)-cassiol par Stoltz	162

II. RESULTATS PERSONNELS ET DISCUSSION.....	164
---	-----

II.1. Analyse rétrosynthétique.....	164
II.2. Synthèse des β -cétoesters alkylés.....	165
II.2.1. Etape d'acylation sur l'énone 423	165
II.2.2. Etape d'alkylation sur le β -cétoester 424	166
II.2.3. Formation des autres β -cétoesters	167
II.3. Etude de l'alkylation décarboxylante asymétrique.....	168
II.3.1. Synthèse du $\text{Pd}_2(\text{pmdba})_3$	168
II.3.2. ADc du β -cétoester porteurs du motif cyclohexénone.....	170
II.3.3. ADc du β -cétoester porteur du motif cyclohexanone	171
II.3.4. ADc des autres β -cétoesters synthétisés	172
II.4. Etude de l'étape de cycloaddition-1,3 dipolaire	174
II.4.1. Avec les composés porteurs du motif cyclohexénone.....	175

II.4.1.1. Résultat préliminaire par chauffage thermique	175
II.4.1.2. Résultats obtenus sous irradiations micro-ondes	176
II.4.1.3. Tentative de synthèse de spiroimine-6,7.....	178
II.4.2. Avec les composés porteurs du motif cyclohexanone.....	179
II.4.2.1. Formation de spiroimine-6,6.....	179
II.4.2.2. Tentative de synthèse de spiroimine-6,7.....	179
III. CONCLUSION.....	181
CHAPITRE 5 : ÉVALUATIONS BIOLOGIQUES DES SPIROIMINES SYNTHÉTISÉES	185
I. AVANT PROPOS.....	185
I. 1. Activité biologique de la (–)-gymnodimine A	185
I. 2. Résultats biologiques des spiroimines-6,6.....	187
I.2.1. Études des spiroimines modèles 150 et 303	187
I.2.2. Études de la spiroimine modèle 472	190
II. CONCLUSION	190
CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES.....	193
EXPERIMENTAL PART.....	201
I. GENERALITY.....	201
I.1. Reagent and solvent purifications	201
I.2. Chromatography technologies.....	202
I.3. Analyses instruments.....	202
II. EXPERIMENTAL PART OF CHAPTER 3	204
III. EXPERIMENTAL PART OF CHAPTER 4.....	258
RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	297

Abréviations et symboles

Å	: angström
AAA	: alkylation allylique asymétrique
Ac	: acétyle
ACh	: acétylcholine
AChBP	: acetylcholine binding protein
AChR	: récepteur de l'acétylcholine
ACN	: acétonitrile
AcOEt	: acétate d'éthyle
AcOH	: acide acétique
ADAM	: 9-antryldiazomethane
ADc	: allylation décarboxylante
ADMET	: acyclic diene metathesis polymerisation
ADN	: acide désoxyribonucléique
AIBN	: azobisisobutyronitrile
ANDEN	: 9,10-dihydro-9,10-ethanoanthracene-11,12-diyl
APTS	: acide <i>para</i> -toluène sulfonique
ARfDs	: acute reference doses
ASP	: amnesic shellfish poisoning
AZP	: azaspiracid shellfish poisoning
9-BBN	: 9-borabicyclo[3.3.1]nonane
BINAP	: (+)-2,2'-bis(diphenylphosphino)-1,1'-binaphthyl
Bn	: benzyle
BTX	: bungarotoxine
Bz	: benzoyle
Cat	: catalytique
CCM	: chromatographie sur couche mince (= TLC)
CE ₅₀	: concentration donnant 50% de l'effet maximum
CFP	: ciguatera fish poisoning
CM	: cross-metathesis
COSY	: correlation spectroscopy
CLHP	: chromatographie liquide haute performance
Cys	: cystéine
DA	: acide domoïque

DABCO : 1,4-diazabicyclo[2.2.2]octane
DACH : 1,2-diaminocyclohexane
Dba : dibenzilidène acétone
DBU : 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-ene
DCC : N,N'-dicyclohexylcarbodiimide
DCM : dichlorométhane
DEAD : diéthyl azodicarboxylate
DemSPX : 13-deméthylspirovide
DFT : densité théorique fonctionnelle
DIBAL : hydrure de diisobutylaluminium
DidemSPX : 13,19-dideméthylspirovide
DIOP : 2,3-O-isopropylidène-2,3-dihydroxy-1,4-bis(diphénylphosphino)butane
DL : dose létale
DM : dynamique moléculaire
DMAP : 4-(N,N-diméthylamino)pyridine
Dmdba : bis (3,5-diméthoxybenzylidène)acétone
DME : diméthyléther
DMF : diméthylformamide
DMP : 2,2-diméthoxypropane
DMSO : diméthylsulfoxyde
DPPBA : acide diphénylphosphinobenzoïque
Dppe : 1,2-bis(diphénylphosphino)éthane
DSP : diarrheic shellfish poisoning
DUPHOS : 1,2-bis[2,5-diisopropylphospholano]benzène
e.d. : excès diastéréomérique
e.e. : excès énantiomérique
EFSA : european food safety authority
ELISA : enzyme-linked immunosorbent assay
équiv. : équivalent
Et : éthyle
Et₂O : éther diéthylique
EtOH : éthanol
Et₃N : triéthylamine
FLD : fluorimetric detection
Gln : glycine
GYM : gymnodimine
h : heure

HMBC : heteronuclear multiple-bond correlation
HMQC : heteronuclear multiquantum coherence
HMPA : hexamethylphosphoramide
HOBt : 1-hydroxybenzotriazole
HPLC : chromatographie liquide à haute performance (High Performance Liquid Chromatography)
HWE : Horner-Wadsworth-Emmons
IBX : 1-hydroxy-1,2-benzodioxol-3(1*H*)-one-1-oxyde
IC : concentration inhibitrice
IE : impact électronique
i-Pr : *iso*-propyle
LC : liquid chromatography
LDA : lithium diisopropylamide
LiAlH₄ : hydrure de lithium et d'aluminium
LiHMDS : bis(triméthylsilyl)amidure de lithium
LOD : limite de détection
LOQ : limite de quantification
Lys : lysine
MALDI : matrix-assisted laser desorption/ionization
mAChR : récepteur muscarinique de l'acétylcholine
Me : méthyle
MeCN : acétonitrile
MeCBS : methyl oxazaborolidine
MeOH : méthanol
Min : minute
MOM : méthoxyméthyle
MS : mass spectroscopy
MTBE : méthyl tert-butyl éther
nAChR : récepteur neuronal de l'acétylcholine
NBS : N-bromosuccinimide
NHK : Nozaki-Hiyama-Kishi
NOE : nuclear overhauser effect
NOESY : nuclear overhauser effect spectroscopy
NSP : neurologic shellfish poisoning
Nu : nucleophile
OA : acide okadaïque
PDA : photodiode array detector
PHOX : (diphénylphosphino)phényl]-2-oxazoline

PKS : polycétide synthase
Pmdba : *p*-méthoxydibenzylidène acétone
PnTX : pinnatoxine
PtTX : ptériatoxine
PSP : paralytic shellfish poisoning
PTX : pectenotoxine
Py = Pyr : pyridine
PyBOP : (benzotriazol-1-yloxy)tripyrrolidinophosphonium hexafluorophosphate
RDT : rendement
RCM : ring-closing metathesis
RMN = NMR : résonance magnétique nucléaire
ROESY : rotating frame overhauser effect spectroscopy
ROM : ring-opening metathesis
ROMP : ring-opening metathesis polymerisation
S_N2 : substitution nucléophile d'ordre 2
SPX : spirolide
STX : saxitoxine
TA : température ambiante
TBAF : tetrabutylammonium fluoride
TBS = TBDMS : *tert*-butyldiméthylsilyle
t-Bu : *tert*-butyle
TMEDA : N,N,N,N-tétraméthyléthylènediamine
TMG : tétraméthylguanidine
TMS : triméthylsilyl
TEOC : 2-(triméthylsilyl)ethyl carbonate
TES : N,N,N',N'-tetraethylsulfamide
Tf: trifluorométhanesulfonyle
THF : tétrahydrofurane
Trp : tryptophane
Ts = Tos : tosyle
Tyr : tyrosine
UE : union européenne
UPLC : ultra performance liquid chromatography
UV : ultraviolet
Val : valine
YTX : yessotoxine

Introduction générale

Introduction générale

Les mers et les océans recouvrent 71% de la surface de notre planète. Ces étendues d'eau contiennent d'immenses richesses qui assurent la survie des populations côtières. Parmi elles les centaines d'espèces de phytoplanctons constituent le premier maillon de la chaîne alimentaire, en servant de nourriture aux herbivores comme les mollusques filtreurs. D'autres espèces de microalgues, lorsqu'elles sont absorbées par les mollusques, libèrent des substances toxiques, aussi appelées phycotoxines, et les rendent impropres à la consommation humaine. Lorsqu'un tel risque existe, l'administration peut prendre des mesures temporaires d'interdiction de leur commercialisation ce qui met en péril tout un secteur professionnel. La présence de phycotoxines dans les coquillages est un problème de santé publique de plus en plus crucial, puisqu'elles se retrouvent sur une grande partie du globe et que de nouvelles toxines sont régulièrement identifiées.

Des études biologiques complètes, sur les toxines réglementées ainsi que sur les toxines émergentes, ont alors été mises en place afin de résoudre ces problèmes de pollution marine. La caractérisation structurale et la détermination de l'origine des toxines retrouvées dans les coquillages sont alors devenues l'une des priorités scientifiques de ces dernières années.

Une nouvelle famille de phycotoxines a été découverte et nommée « spiroimines ». La principale caractéristique structurale de ces molécules est la fonction imine spirocyclique, qui semble conférer à la toxine son activité biologique. Toutefois, le mécanisme d'action n'est pas encore connu avec précision et l'isolement en faibles quantités de ces molécules constitue une limite pour l'étude de leur activité. Pour résoudre ce problème, la synthèse chimique de ces phycotoxines devient un outil indispensable pour les produire en plus grande quantité.

La synthèse d'analogues simplifiés de molécules actives, possédant de très fortes activités biologiques, peut aussi être intéressante pour l'étude du mécanisme d'action. Récemment, un nouveau concept (nommé DTS pour « Diverted Total Synthesis ») a d'ailleurs été développé par Danishefsky.¹ Les cibles analogues diffèrent de la cible naturelle en degré d'oxydation, nature des substituants, détails stéréochimiques ou encore par toute une partie de la molécule en ne gardant que le pharmacophore. L'objectif étant de baisser la toxicité et d'améliorer l'activité biologique.

¹ R. M. Wilson, S. J. Danishefsky, *J. Org. Chem.* **2006**, 71, 8329-8351.

Dans ce contexte, un programme de recherche pluridisciplinaire est né de la collaboration entre plusieurs équipes sur la synthèse et l'étude pharmacologique des phycotoxines de la famille des spiroimines. Le but de ce travail est, d'une part, de réaliser des fragments de molécules judicieusement choisis en suivant la logique « DTS » afin d'étudier leurs activités biologiques et d'autre part, de réaliser *in fine* la synthèse totale de ces molécules. Pour ce faire, deux équipes de chimistes (celle du Dr. Catherine Guillou, ICSN, Gif-sur-Yvette et celle du Pr. Yannick Landais, ISM, Bordeaux 1) travaillent en étroite collaboration avec l'équipe de neurobiologistes dirigée par le Dr. Jordi Molgò (NBCM, Gif-sur-Yvette) avec le support financier de l'Agence Nationale pour la Recherche (ANR).

À travers ce doctorat, une étude approfondie a été réalisée autour de la synthèse de la (-)-gymnodimine A, toxine de la famille des « spiroimines ». Nous présenterons dans le premier chapitre, les différentes molécules de cette famille de phycotoxines ainsi que leurs isollements et leurs propriétés biologiques. Le deuxième chapitre complètera l'état de l'art actuel en abordant les différentes approches synthétiques envisagées à ce jour. Par la suite, les chapitres 3 et 4 exposeront les résultats obtenus au cours de la formation de motifs spiroimines par réaction de Tsuji-Trost ou par allylation décarboxylante asymétrique. Enfin, le dernier chapitre présentera les résultats biologiques préliminaires des spiroimines synthétisées.

Chapitre 1 : Les phycotoxines de la famille des spiroimines : isolement et propriétés biologiques

Chapitre 1 : Les phycotoxines de la famille des spiroides : isolement et propriétés biologiques

I. Introduction

Le monde marin, grâce à l'isolement d'un grand nombre de métabolites secondaires, a révélé ces dernières années une grande diversité structurale. En plus du caractère inhabituel de ces structures, ces molécules ont souvent montré des activités biologiques intéressantes ; ce qui les a rendues très attractives aux yeux du monde scientifique.²

Les micro-algues, et particulièrement les dinoflagellés, sécrètent des phycotoxines dans des circonstances encore mal connues. Il semblerait que celles-ci soient libérées au cours d'un mécanisme de défense, pour pallier les attaques d'autres organismes ou les attaques environnementales. On pourrait alors imaginer qu'elles aient des propriétés antibactériennes, antifongiques ou encore qu'elles permettent d'inhiber la croissance des espèces algales concurrentes. Un autre rôle hypothétique de ces toxines serait plutôt physiologique puisqu'elles seraient alors impliquées dans des processus essentiels au développement intrinsèque de l'algue, comme par exemple, le mécanisme de photosynthèse.³

Les efflorescences algales sont de plus en plus fréquentes et intenses à travers le monde et entraînent de nos jours de graves problèmes sanitaires. Les facteurs environnementaux influençant la dynamique des populations phytoplanctoniques sont nombreux. On peut citer tout d'abord la température, la salinité et l'intensité lumineuse, mais il faut savoir que la turbulence de l'eau, la force des vents et les courants de marées peuvent aussi jouer un rôle prépondérant. De plus, selon l'affinité des espèces pour un type de nutriments, les dinoflagellés développent des stratégies adaptatives et sont capables de migrer vers des zones plus riches. Les changements climatiques et l'enrichissement du milieu en nutriments pourraient alors expliquer l'augmentation des efflorescences algales depuis ces trente dernières années. Au sein des 5000 espèces phytoplanctoniques connues, seules 70 ont la capacité de produire des toxines qui peuvent atteindre l'homme. Ces dinoflagellés, porteurs des phycotoxines, sont ingérés par les coquillages qui concentrent alors ces toxines dans leurs tissus comestibles et agissent comme vecteurs de transmission auprès des animaux marins puis des humains.

² Blunt, J. W.; Copp, B. R.; Hu, W. P.; Munro, H. G.; Northcote, P. T.; Prinsep, M.R. *Nat. Prod. Rep.*, **2007**, 24, 31.

³ (a) Bertrand, N.; Cathala, D.; Delahaie, S. *Les toxines marines sur le littoral français, état des connaissances*, ENSP, **2006**, http://fulltext.bdsp.ehesp.fr/Ensp/memoires/2007/ase_igs/atelier_3.pdf atelier (b) Fremy, J-M.; Lassus, P. *Toxines d'algues dans l'alimentation*, Ed. IFREMER, **2001**.

À ce jour, sept différentes classes de phycotoxines ont été identifiées suivant les symptômes observés chez l'homme après leur ingestion :

- les toxines diarrhéiques (**DSP = Diarrhetic Shellfish Poisoning**)⁴
- les toxines paralytiques (**PSP = Paralytic Shellfish Poisoning**)⁵
- les toxines amnésiantes (**ASP = Amnesic Shellfish Poisoning**)⁶
- les toxines neurologiques (**NSP = Neurologic Shellfish Poisoning**)⁷
- les toxines de type azaspiracide (**AZP = AZaspiracid Shellfish Poisoning**)⁸
- les toxines de la ciguatera (**CFP = Ciguatera Fish Poisoning**)⁹
- les toxines issues des tétraodontidés (poissons ballons)¹⁰

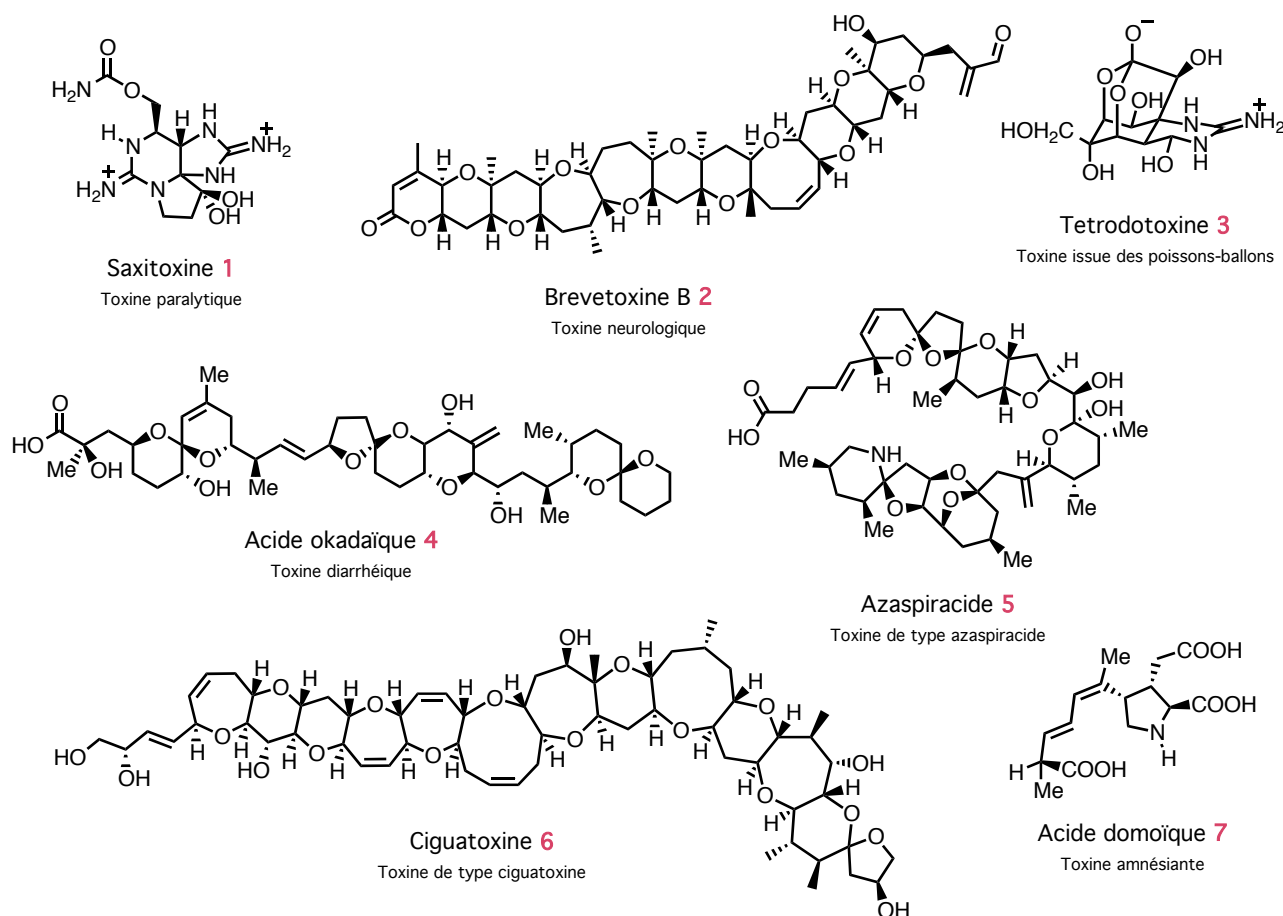


Figure 1: Structures chimiques des principales toxines marines

⁴ (a) Paz, B.; Daranas, A. H.; Norte, M.; Riobo, P.; Franco, J. M.; Fernandez, J. J. *Mar. drugs*, **2008**, *6*, 2, 73-102 (b) Ten-Hage, L.; Delaunay, N.; Pichon, V.; Couté, A.; Puisseux-Dao, S.; Turquet, J. *Toxicon*, **2000**, *38*, 1043-1054.

⁵ (a) Laycock, M. V.; Donovan, M. A.; Easy, D. J. *Toxicon*, **2010**, *55*, 597-605 (b) Wiese, M.; D'agostino, P. M.; Mihali, T. K.; Moffitt, M. C.; Neilan, B. A. *Mar. drugs*, **2010**, *8*, 2185-2211.

⁶ (a) Blanco, J.; Livramento, F.; Menezes-Rangel, I. *Toxicon*, **2010**, *55*, 541-546 (b) Pulido, O. M. *Mar. drugs*, **2008**, *6*, 180-219.

⁷ (a) Isbister, G. K.; Kiernan, M. C. *Lancet Neurology* **2005**, *4*, 219-28 (b) Rein, K. S.; Lynn, B.; Gawley, R. E.; Baden, D. G. *J. Org. Chem* **1994**, *59*, 2107-2113.

⁸ (a) T. McMahon, J. Silke, *Harmful Algae News* **1996**, *4*, 2. (b) M. J. Twiner, N. Rehmann, P. Hess, G. J. Doucette, *Mar. Drugs* **2008**, *6*, 39-72.

⁹ Friedman, M. A.; Fleming, L. E.; Fernandez, M.; Bienfang, P.; Schrank, K.; Dickey, R.; Bottein, M.-Y.; Backer, L.; Ayyar, R.; Weisman, R.; Watkins, S.; Granade, R.; Reich, A. *Mar. Drugs* **2008**, *6*, 456-479.

¹⁰ Saoudi, M.; Abdelmouli, A.; El Faki, A. *Toxin review* **2010**, *29*, 60-70.

D'autres groupes émergents de phycotoxines, comme les « toxines à actions rapides », doivent être considérés comme une classe à part entière. C'est dans cette catégorie que se place les gymnodimines (**GYM**), les spiroïdes (**SPX**),¹¹ les pinnatoxines (**PnTX**) et les ptériatoxines (**PtTX**). Ces molécules azotées traduisent leurs activités chez les souris par des symptômes neurologiques, comme des spasmes ou des convulsions, puis entraînent la mort en quelques minutes. Connues depuis les années 90, ces neurotoxines sont préoccupantes pour la santé humaine.

De nombreuses phycotoxines différentes ont déjà causé de nombreux problèmes sanitaires dans le monde puisqu'elles ont été détectées dans de nombreux pays (Canada, Norvège, Nouvelle-Zélande, Tunisie...). En France, les autorités sanitaires ont interdit à plusieurs reprises la commercialisation des huîtres et des moules du bassin d'Arcachon.¹²

II. Isolement, structure et toxicité des spiroimines

II. 1. Les gymnodimines

II.1.1. Origine des toxines

En 1993, des extraits d'huîtres de Nouvelle-Zélande, testés dans le cadre du contrôle de la salubrité des coquillages, ont présenté une forte toxicité sur la souris, sans qu'aucune intoxication alimentaire n'ait été signalée. Les travaux d'isolement du principe actif à partir de ces huîtres ont conduit à l'identification d'une nouvelle neurotoxine marine, la (-)-gymnodimine A **8a** (GYM A). L'observation simultanée d'algues du dinoflagellé *Gymnodinium* cf. *Mikimotoi* (*Karenia selliformis*) (Figure 2) puis l'isolement de GYM A à partir de cette souche a permis d'établir l'origine de cette toxine.¹³



Figure 2: *Karenia selliformis*

II.1.2. Caractéristiques et structures des gymnodimines

La gymnodimine A **8a** est une nouvelle toxine d'origine marine qui possède une structure particulièrement complexe. En effet, elle comporte un motif spiroimine, dans lequel l'imine est placée dans un cycle à 6 chaînons, ce qui lui confère une grande originalité.

¹¹ Guéret, S. M.; Brimble, M. A. *Nat. Prod. Rep.* **2010**, *27*, 1350-1366.

¹² Amzil, Z.; Sibat, M.; Royer, F.; Masson, N.; Abadie, E. *Mar. Drugs* **2007**, *5*, 168-179.

¹³ Seki, T.; Satake, M.; Mackenzie, L.; Kaspar, H.; Yasumoto, T. *Tetrahedron Lett.* **1995**, *36*, 7093-7096.

II.1.3. Toxicité sur les souris

II.1.3.1 Toxicité aiguë par injection intrapéritonéale

Lors de l'isolement par Seki *et al.* en 1995¹³ de la GYM A **8a**, différents tests biologiques ont été réalisés à partir des extraits dont ils disposaient. Ils ont montré que la dose létale minimale (DL_{min}) par injection intrapéritonéale chez les souris était de $450 \mu\text{g.kg}^{-1}$. Quelques années plus tard, Munday *et al.*, à partir d'un échantillon très pur de GYM A **8a**, ont mesuré une dose létale 50 (DL_{50}) de seulement $96 \mu\text{g.kg}^{-1}$.¹⁷ Des tests réalisés avec la gymnodamine **9** ont montré une très faible toxicité puisqu'aucun effet n'a été observé pour une DL_{min} supérieure à $4040 \mu\text{g.kg}^{-1}$.¹⁴ D'autres études menées par Biré *et al.* ont montré que la DL_{50} de la GYM A **8a** issue de palourdes contaminées se situait entre 97 et $110 \mu\text{g.kg}^{-1}$.¹⁸ (Tableau 1)

COMPOSÉ	SOUCHE DE SOURIS	SEXE DE LA SOURIS	TOXICITÉ ($\mu\text{g.kg}^{-1}$)	REFERENCE
GYM A 8a	-	-	$DL_{min} = 450$	13
GYM A 8a	-	-	$DL_{min} = 700$	14
GYM A 8a	Swiss albino	femelle	$DL_{50} = 96$ (79-118)	17
GYM A 8a	-	femelle	$DL_{50} = 97-110$	18
Gymnodamine 9	-	-	$DL_{min} > 4040$	14

DL_{50} : Dose létale 50 ; DL_{min} : Dose létale minimale

Tableau 1: Toxicité de la (-)-gymnodimine A et de la gymnodamine par injection intrapéritonéale chez la souris

Les symptômes physiques observés ont été étudiés chez les souris. Ceux-ci apparaissent très rapidement après l'injection intrapéritonéale, ce qui montre une absorption rapide dans le péritoine. Après l'injection de doses létales de GYM A **8a**, les souris deviennent très actives puis après une minute, leurs mouvements deviennent plus lents et les souris marchent avec difficulté. Leurs membres inférieurs se paralysent et elles s'immobilisent. Des problèmes respiratoires apparaissent puis la mort des souris est observée 15 minutes plus tard.

¹⁷ Munday, R.; Towers, N. R.; Mackenzie, L.; Beuzenberg, V.; Holland, P. T.; Miles, C.O. *Toxicon*, **2004**, *44*, 173-178.

¹⁸ R. Biré, Contribution à l'appréciation du risque pour l'Homme lié à la présence de phycotoxines neurologiques dans les coquillages - Mise en place d'un système de management de la qualité en recherche PhD Thesis, University of Paris VII 278 pp. **2004**.

Après l'injection de doses toxiques non mortelles, des sensations de prostration et de difficultés respiratoires sont observées, mais la souris retrouve son état normal après 30 min. Aucun effet nuisible n'a été observé pendant les 21 jours qui suivent l'expérience.

II.1.3.2 Toxicité aiguë par administration orale

La GYM A **8a** est beaucoup moins toxique lorsqu'elle est administrée par voie orale. Aucune souris ayant reçu cette toxine **8a** par gavage d'extrait de parlorudes à hauteur de 500 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ ne meurt. En revanche, la délivrance de la toxine dans l'alimentation de la souris, à une dose de 7500 $\mu\text{g.kg}^{-1}$, entraîne la mort d'au moins quatre sujets sur cinq, après une durée moyenne de 4,4 minutes. La mesure de la DL_{50} a alors été évaluée à 755 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ (Tableau 2). Les symptômes de la toxicité sont similaires à ceux observés par voie intrapéritonéale et les animaux survivants récupèrent entièrement leurs facultés.

COMPOSÉ	MÉTHODE D'ADMINISTRATION	TOXICITÉ ($\mu\text{g.kg}^{-1}$)	REFERENCE
GYM A 8a	gavage	$\text{DL}_{50} = 755$ (600-945)	17
GYM A 8a	gavage	$\text{DL}_{\min} > 1225$	18
GYM A 8a	alimentation	$\text{DL}_{\min} > 7500$	17

DL_{50} : Dose létale 50 ; DL_{\min} : Dose létale minimale

Tableau 2: Toxicité de la (-)-gymnodimine A par administration orale

II. 2. Les spirolides

II.2.1. Origine des toxines

Les spirolides ont été découverts pour la première fois au Canada, en 1991, dans des coquillages (moules, coquilles Saint-Jacques) lors des contrôles de routine pour le dépistage des toxines diarrhéiques. La répartition spatio-temporelle de ces toxines coïncide avec les proliférations phytoplanctoniques estivales (mai à juillet) mais leur origine exacte n'a été élucidée qu'en 1998. Elles ont été attribuées au dinoflagellé *Alexandrium ostenfeldii*, algue présente en Manche et en Atlantique, qui produit également des toxines paralysantes (Figure 4).¹⁹

¹⁹ Cembela, A. D.; Lewis, N. I.; Quilliam, M. A. *Phycologia* **2000**, 39, 67-74.

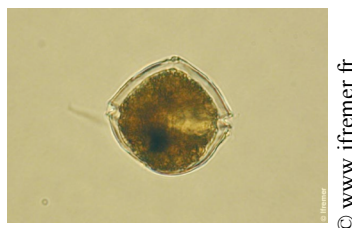


Figure 4: *Alexandrium ostenfeldii*

II.2.2. Caractéristiques et structures des spirolides

Les structures des SPX **11a** à **11g** n'ont été identifiées qu'en 1995 (Figure 5). Chaque forme ne diffère des autres que par la substitution d'un hydrogène par un méthyle au niveau des groupements R¹, R² et R³.²⁰ Une étude approfondie concernant la configuration relative des centres asymétriques a été réalisée par des expériences RMN et de modélisation moléculaire.²¹ Cependant, la configuration du carbone C4 n'a pas pu être déterminée en raison de la libre rotation autour de la liaison C4-C5.

Ce n'est qu'en 2009 que d'autres études ont permis de lever l'ambiguïté quant à la stéréochimie du carbone C4 pour le didemSPX C **11f**. Par une étude fine des constantes de couplage ainsi que des calculs théoriques, Forino *et al.* ont assigné la configuration (R) du carbone asymétrique C4.²²

Les SPX E **12a** et F **12b**²³ ont une structure proche des SPX **11a** à **11g** mais ils ne présentent pas la fonction imine et sont inactifs. Ils ont été extraits uniquement à partir des chairs de coquillages et pourraient donc être des produits de dégradations formés lors de la métabolisation des formes actives dans les coquillages.

Le spirolide G **13a** et le 20-méthylspirolide G **13b** ont quant à eux été isolés plus récemment.^{24,25} Du fait des faibles quantités obtenues, les analyses spectroscopiques n'ont pas permis de déterminer leur configuration relative et absolue.

²⁰ Hu, T. M.; Curtis, J. M.; Oshima, Y.; Quilliam, M. A.; Walter, J. A.; Watsonwright, W. M.; Wright, J. L. C. *Chem. Commun.* **1995**, 2159-2161.

²¹ (a) Falk, M.; Burton, I. W.; Hu, T.; Walter, J. A.; Wright, J. L. C. *Tetrahedron* **2001**, 57, 8659-8665 (b) Hu, T.; Burton, I. W.; Cembella, A. D.; Curtis, J. M.; Quilliam, M. A.; Walter, J. A.; Wright, L. C. *J. Nat. Prod.* **2001**, 64, 308-312.

²² Ciminiello, P.; Catalanotti, B.; Dell'Aversano, C.; Fattorusso, C.; Forino, M.; Grauso, L.; Leo, A.; Tartaglione, L. *Org. Biomol. Chem.* **2009**, 7, 3674-3681

²³ Hu, T. M.; Curtis, J. M.; Walter, J. A.; Wright, J. L. C. *Tetrahedron Lett.* **1996**, 37, 7671-7674.

²⁴ MacKinnon, S. L.; Walter, J. A.; Quilliam, M. A.; Cembella, A. D.; LeBlanc, P.; Burton, I. W.; Hardstaff, W. R.; Lewis, N. I. *J. Nat. Prod.* **2006**, 69, 983-987.

²⁵ Aasen, J.; MacKinnon, S. L.; LeBlanc, P.; Walter, J. A.; Hovgaard, P.; Aune, T.; Quilliam, M. A. *Chem. Res. Toxicol.* **2005**, 18, 509-515.

Enfin, deux nouveaux spirolides : SPX H **14a** et SPX I **14b**, ont été identifiés et caractérisés en 2009.²⁶ On peut noter une différence structurale majeure, par comparaison avec le SPX A **11a**, puisque l'on retrouve seulement deux cycles sur trois sur la partie poly-acétalique. Des tests biologiques préliminaires ont montré que le SPX H **14a** n'était pas très actif avec une dose létale supérieure à 2000 $\mu\text{g.kg}^{-1}$.

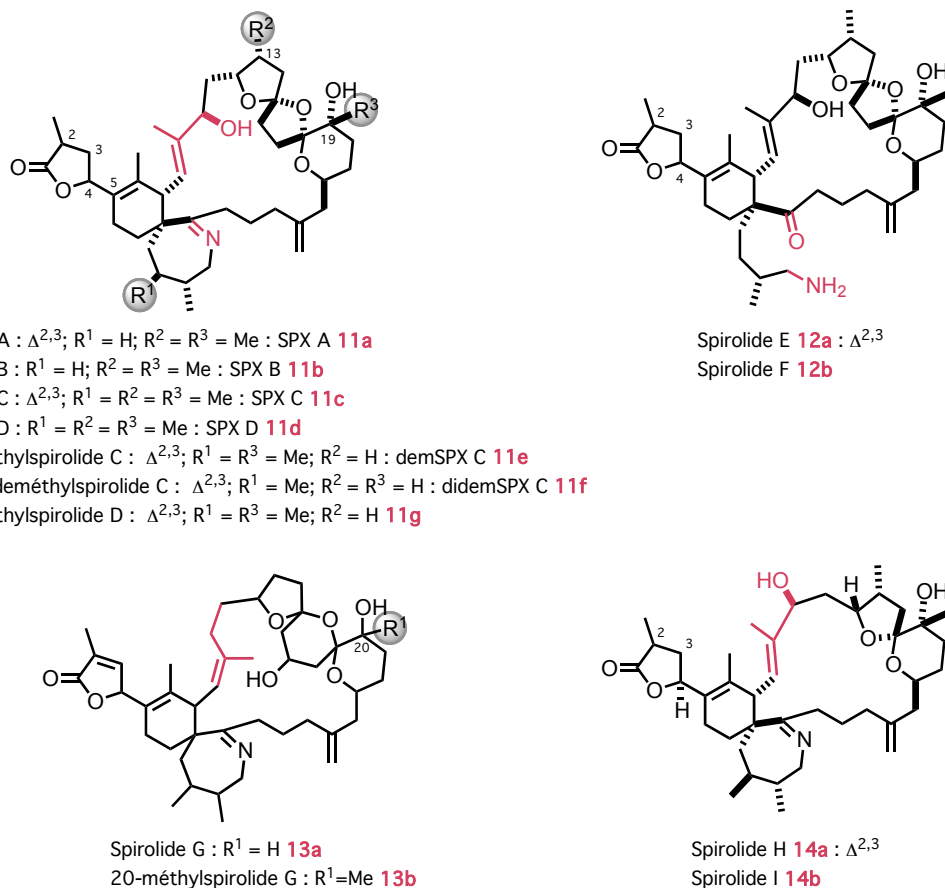


Figure 5: Structures chimiques des spirolides

II.2.3. Toxicité sur les souris

II.2.3.1 Toxicité aiguë par injection intrapéritonéale

Ces molécules sont elles aussi des neurotoxines. La toxicité pour l'homme n'est pas démontrée, mais les effets sur les souris utilisées pour les contrôles sanitaires sont bien réels. Les données concernant la toxicité des SPX par injection intrapéritonéale montrent que les SPX B **11b** et D **11d** ont une toxicité similaire. En revanche, les SPX E **12a** et F **12b**, dans lesquels la spiroimine est ouverte, sont beaucoup moins toxiques, voire inactifs (Tableau 3).²³

²⁶ Roach, J. S.; LeBlanc, P.; Lewis, N. I.; Munday, R.; Quilliam, M. A.; MacKinnon, S. L. *J. Nat. Prod.* **2009**, 72, 1237-1240.

Concernant le SPX H **14a**, isolé récemment par MacKinnon, il est très important de noter que ce spirolide n'a pas d'activité biologique bien que la fonction spiroimine soit présente.²⁶ Il semblerait donc que la fonction spiroimine ne soit pas le seul élément responsable de l'activité biologique (Tableau 3).

Enfin, les tests réalisés sur des échantillons purs de demSPX C **11e**, de SPX C **11c** et de 20-méthylspirolide G **13b** montrent une très grande toxicité (DL_{50} comprise entre 6.9 et 8.0 $\mu\text{g.kg}^{-1}$).²⁷ (Tableau 3)

COMPOSÉ	SOUCHE DE SOURIS	SEXE DE LA SOURIS	TOXICITÉ ($\mu\text{g.kg}^{-1}$)	REFERENCE
SPX B 11b	-	-	$DL_{100} = 250$	20
SPX D 11d	-	-	$DL_{100} = 250$	20
SPX E 12a	-	-	$DL_{\min} > 1000$	25
SPX F 12b	-	-	$DL_{\min} > 1000$	25
SPX H 14a	-	-	$DL_{\min} > 2000$	26
dem SPX C 11e	Swiss albino	Femelle nourrie	$DL_{50} = 6,9$ (5-8)	27
dem SPX C 11e	Swiss albino	Femelle à jeun	$DL_{50} = 6,9$ (5-8)	27
SPX C 11c	Swiss albino	Femelle	$DL_{50} = 8,0$ (4,6-16,2)	27
20-méthylSPX G 13b	Swiss albino	Femelle	$DL_{50} = 8,0$ (3,9-14,1)	27

DL_{100} : Dose létale 100 ; DL_{\min} : Dose létale minimale ; DL_{50} : Dose létale 50

Tableau 3: Toxicité des spirolides par injection intrapéritonéale

II.2.3.2 Toxicité aiguë par administration orale

Par administration orale, les différents SPX sont beaucoup moins toxiques que la GYM A **8a**, sauf dans le cas du SPX C **11c** pour lequel une valeur de DL_{50} de 53 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ a été mesurée.

²⁷ L. M. Botana, In *Seafood And Freshwater Toxins: Pharmacology, Physiology And Detection*, CRC Press Inc, **2008**.

II. 3. Les pinnatoxines

II.3.1. Origine des toxines

Les coquillages du genre *Pinna* vivent principalement dans les eaux peu profondes des zones tropicales ou tempérées de l'océan indien et pacifique. Le muscle adducteur de ce bivalve est utilisé dans la nourriture japonaise et chinoise et a causé fréquemment des intoxications alimentaires.

L'étude de l'espèce *Pinna attenuata* par l'équipe de Uemura, en 1995, a permis d'isoler la PnTX A **15a** et la PnTX B **15b**.²⁸ En 1996, la PnTX D **15d** a été découverte lors de l'étude de *pinna muricata*²⁹ (Figure 6), puis en 2001, un mélange inséparable (1:1) de la PnTX B **15b** et de la PnTX C **15c** a été obtenu de ce même mollusque.³⁰

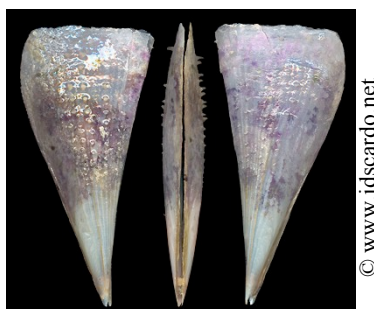


Figure 6: *Pinna muricata*

II.3.2. Caractéristiques et structures des pinnatoxines

La structure et la stéréochimie de ces molécules ont été élucidées par des études RMN complètes (RMN ¹H, RMN ¹³C, NOESY, ROESY,...) et également par l'étude des spectres de masse MS/MS en ionisation positive par électrospray. Ces molécules ont toutes la même configuration relative et elles sont composées de deux motifs spiroacétaliques : l'un tricyclique 6,5,6 et l'autre bicyclique 5,6. D'autre part, on retrouve le motif spiroimine-6,7 sur lequel la chaîne latérale R diffère selon les PnTX. Les PnTX B **15b** et PnTX C **15c** étant des épimères (Figure 7).

²⁸ Uemura, D.; Chou, T.; Haino, T.; Nagatsu, A.; Fukuzawa, S.; Zheng, S.-Z.; Chen, H.-S. *J. Am. Chem. Soc.*, **1995**, *117*, 1155-1156.

²⁹ Chou, T.; Haino, T.; Kuramoto, M.; Uemura, D. *Tetrahedron Lett.*, **1996**, *37*, 4027-4030.

³⁰ Takada, N.; Umemura, N.; Suenaga, K.; Chou, T.; Nagatsu, A.; Haino, T.; Yamada, K.; Uemura, D. *Tetrahedron Lett.*, **2001**, *42*, 3491-3494.

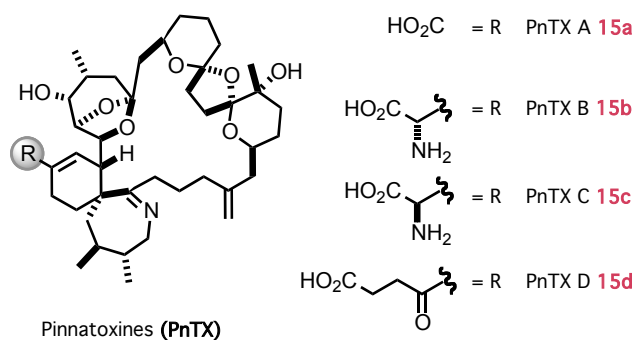


Figure 7: Structures chimiques des pinnatoxines

II.3.3. Toxicité sur les souris

II.3.3.1 Toxicité aiguë par injection intrapéritonéale

Selon les études réalisées, la PnTX A **15a** a une DL_{99} de 180 ou 135 $\mu\text{g.kg}^{-1}$. En revanche, la (–)-PnTX A **15a** (non naturelle, synthétisée par Kishi) n'a pas d'effet toxique à une dose de 5000 $\mu\text{g.kg}^{-1}$.³² La PnTX D **15d** est moins toxique que la PnTX A **15a** mais le mélange 1:1 des PnTX B **15d** et C **15c** est plus toxique sur la souris puisqu'une DL_{50} de seulement 22 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ a été mesurée (Tableau 4). Cependant, aucune information n'a été collectée sur la nature des symptômes observés chez la souris.

COMPOSÉ	SOUCHE DE SOURIS	SEXE DE LA SOURIS	TOXICITÉ ($\mu\text{g.kg}^{-1}$)	REFERENCE
(+)-PnTX A 15a	-	-	$DL_{99} = 180$	28
(+)-PnTX A 15a	-	-	$DL_{99} = 135$	32
(–)-PnTX A 15a	-	-	$DL_{\text{min}} > 5000$	32
PnTX B 15d et PnTX C 15c	-	-	$DL_{99} = 22$	30
PnTX D 15d	-	-	$DL_{99} = 400$	29

DL_{99} : Dose létale 99 ; DL_{min} : Dose létale minimale

Tableau 4: Toxicité des pinnatoxines par injection intrapéritonéale

II.3.3.2 Toxicité aiguë par administration orale

Aucune donnée sur la toxicité des PnTX par voie orale n'a été rapportée dans la littérature à ce jour.

II. 4. Les ptériatoxines

II.4.1. Origine des toxines

Les ptériatoxines A **16a**, B **16b** et C **16c** ont été isolées à partir des viscères de bivalves du genre *Pteria penguin* (Figure 8).³¹



Figure 8 : *Pteria penguin*

II.4.2. Caractéristiques et structures des ptériatoxines

Seules de très faibles quantités de ces toxines ont été extraites de ces bivalves, mais les travaux impressionnants de synthèse totale de Kishi *et al.* ont permis de déterminer sans aucune ambiguïté la configuration absolue de ces composés.^{32,33} Les ptériatoxines diffèrent des pinnatoxines par leurs chaînes latérales R présentes sur le motif spiroimine-6,7. Ces chaînes comportent toutes un motif dérivé de la cystéine (Figure 9).

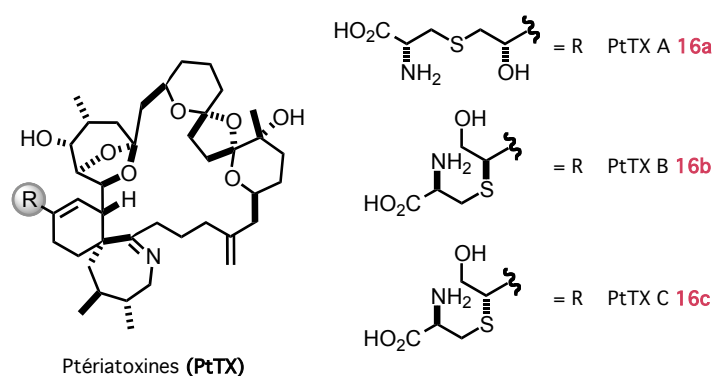


Figure 9: Structures chimiques des ptériatoxines

³¹ Takada, N.; Umemura, N.; Suenaga, K.; Uemura, D. *Tetrahedron Lett.*, **2001**, 42, 3495-3497.

³² Matsuura, F.; Peters, R.; Anada, M.; Harried, S. S.; Hao, J.; Kishi, Y. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, 128, 7463-7465.

³³ Hao, J. L.; Matsuura, F.; Kishi, Y.; Kita, M.; Uemura, D.; Asai, N.; Iwashita, T. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, 128, 7742-7743.

II.4.3. Toxicité sur les souris

II.4.3.1 Toxicité aiguë par injection intrapéritonéale

La PtTX A **16a** a une DL_{99} de $100 \mu\text{g.kg}^{-1}$ quand elle est administrée par injection intrapéritonéale. Un mélange 1:1 des PtTX B **16b** et C **16c** se révèle beaucoup plus toxique puisqu'une DL_{99} de $8 \mu\text{g.kg}^{-1}$ a été mesurée (Tableau 5).

COMPOSÉ	SOUCHE DE SOURIS	SEXE DE LA SOURIS	TOXICITÉ ($\mu\text{g.kg}^{-1}$)	REFERENCE
PtTX A 16a	-	-	$DL_{99} = 100$	31
PtTX B 16b et PtTX C 16c	-	-	$DL_{99} = 8$	31

DL_{99} : Dose létale 99

Tableau 5: Toxicité des PtTX par injection intrapéritonéale

II.4.3.2 Toxicité aiguë par administration orale

Aucune donnée sur la toxicité des PnTX par voir orale n'a été rapportée dans la littérature à ce jour.

III. Détection des spiroimines

III. 1. Méthodes de référence

III.1.1 Législation et méthodes officielles

La commission européenne a demandé à l'E.F.S.A. (**E**uropean **F**ood **S**afety **A**uthority) de définir clairement les teneurs limites en toxine sans risque pour la santé humaine et les méthodes d'analyses associées à leur détection.³⁴

L'E.F.S.A. a alors défini les ARfDs (**A**cute **R**eference **D**oses) pour différents groupes de toxines :

- l'acide okadaïque et ses dérivés (OA)
- les toxines de type azaspiracides (AZP)
- les toxines de type yessotoxine (YTX)
- les toxines de type saxitoxin (STX)
- les toxines de type pectenotoxine (PTX)
- l'acide domoïque (DA)

Ces valeurs désignent les quantités maximales de toxines contenues dans la nourriture qui peuvent être ingérées, sur une période de 24 h ou moins, sans risque appréciable pour la santé. Elles ont ensuite pu être comparées aux limites réglementaires en vigueur et il semblerait qu'actuellement, les protections sanitaires ne soient pas suffisantes (Tableau 6).

D'une façon générale, à part pour les YTX, les concentrations définies par les ARfDs sont inférieures aux concentrations tolérées pour les mises sur le marché (Tableau 6). La comparaison des ARfDs avec les limites de détection (**LOD**) et les limites de quantification (**LOQ**) des différentes méthodes d'analyses permet également d'apprécier leur efficacité.

En plus de ne pas prendre en compte les familles de toxines émergentes, comme celles des spiroimines, la législation actuelle est bien trop insuffisante. Les développements et les validations de méthodes se sont multipliés ces dernières années mais le manque d'étalons de référence empêche encore d'avoir des procédures vraiment efficaces.

³⁴ Marine Biotoxins in Shellfish - Summary on regulated marine biotoxins *The EFSA Journal*, **2009**, 1306, 1-23.

GROUPE DE TOXINE	LIMITE ACTUELLE (par kg de coquillages)	ARfDs (par kg de masse corporelle)	CONCENTRATION MAXIMUM EN TOXINE DANS UNE PORTION DE 400G DE COQUILLAGES POUR UNE PERSONNE DE 60KG (par kg de coquillages)
OA et analogues	160 µg d'OA ^(a)	0,3 µg d'OA	45 µg d'OA
AZA	160 µg d'AZA ^(b)	0,2 µg d'AZA 1	30 µg d'AZA 1
PTX	160 µg d'OA ^(a)	0,8 µg de PTX 2	120 µg de PTX 2
YTX	1 mg de YTX	25 µg de YTX	3.75 mg de YTX
STX	800 µg de PSP ^(c)	0,5 µg de STX	75 µg de STX
DA	20 mg de DA	30 µg de DA ^(d)	4.5 mg de DA ^(d)

(a) : Pour OA, PTX et les dinophysistoxines, la réglementation actuelle donne une valeur combinée. Il a été conclu que les PTX pouvaient être considérés séparément.

(b) : Il a été établi que le groupe de toxines AZA pouvait se référer aux équivalents AZA 1.

(c) : Dans la commission de réglementation (EC) No 853/2004 une valeur limite de 800 µg de PSP par kg de chair de coquillages est donnée. L'E.F.S.A. adopte cette figure comme étant exprimée en µg de STX par kg.

(d) : Somme de DA et de *epi*-DA

Tableau 6: Concentrations limites en toxines fixées actuellement par l'UE et valeurs d'ARfDs établies par l'E.F.S.A.

III.1.2 Bioessais sur les souris

La législation européenne reconnaît le test biologique comme test officiel pour la détection de certaines toxines marines, comme les toxines diarrhéiques, paralysantes ou de type azaspiracide. Le test de la souris a été développé au Japon dans les années 1970,³⁵ mais chaque laboratoire utilisait son propre protocole. Pour pallier le problème, une procédure européenne détaillée a été écrite pour standardiser la méthode.³⁶

Une fois préparés selon le protocole européen, les extraits de coquillages sont injectés par voie intrapéritonéale à trois souris de sexe masculin, pesant moins de 20 g. Si au moins deux souris sur trois meurent en moins de 24 h, l'échantillon est considéré comme positif et le lot de coquillages est interdit à la consommation. Malheureusement, ce test peut provoquer des résultats positifs même en cas d'absence de toxines, ce qui entraîne des fermetures administratives injustifiées. Bien que reconnu en Europe, la France a décidé d'interdire ce test depuis janvier 2010.

³⁵ (a) Yasumoto, T.; Hashimoto, Y.; Bagnis, R.; Randall, J. E.; Banner, A. H.; *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.* **1971**, *37*, 724-734 (b) Kat, M. *In Toxic Dinoflagellate Blooms*; Taylor, D. L.; Seliger, H. H.; Eds.; Elsevier : New York, NY, USA, **1979**, 215-220

³⁶ Version du 5 juin 2009 disponible sur internet (<http://www.aesan.msps.es/en/CRLMB/web/home.shtml>)

III.1.3 Bioessais sur les rats

Les bioessais sur les rats ont été développés aux Pays-Bas ; c'est d'ailleurs le seul pays qui les utilise actuellement. Des rats de sexe féminin, à jeun depuis 24 h, sont nourris avec 10 g d'hépatopancréas de coquillages. Après 16 h, la consistance des excréments est analysée ; de sévères diarrhées correspondent à de fortes teneurs en toxines. Le principal inconvénient de ce test est sa limitation aux toxines diarrhéiques. La limite de détection est proche de 160 µg d'équivalent d'acide okadaïque par kilogramme de coquillages, mais ces résultats ne sont ni quantitatifs ni objectifs.³⁴

III. 2. Développement de méthodes alternatives

La politique actuelle de la Commission européenne tend à supprimer le plus possible les tests toxicologiques sur les animaux. Pour plusieurs raisons, les bioessais sont souvent controversés. De façon générale, ces techniques manquent de spécificité et de sensibilité : aucune élucidation précise de la toxine incriminée n'est possible et des faux positifs sont souvent générés. Les délais d'analyse sont longs, de l'ordre de plusieurs jours, ce qui limite la réactivité des organismes de contrôle en cas de résultat positif. D'autre part, ces tests sont devenus inacceptables d'un point de vue éthique, ce qui explique les efforts mis en place pour les remplacer.

III.2.1 Essais *in vitro*

L'utilisation de culture cellulaire pour la détection de toxines marines a déjà été étudiée et pourrait devenir une méthode alternative aux essais *in vivo*. Ces tests, effectués directement sur des cellules, sont basés sur le mode d'action toxicologique de la toxine dans le procédé biologique. Ce sont les changements morphologiques provoqués dans les cellules qui sont alors analysés.

Les toxines OA, par exemple, peuvent être détectées par inhibition de la protéine phosphatase 2A (PP2A) en utilisant une détection fluorimétrique.³⁷ Une très bonne corrélation avec les essais sur la souris a d'ailleurs été obtenue dans de nombreux laboratoires. Récemment, un test d'inhibition de la polarisation de fluorescence a été développé pour les spirolides, nous y reviendrons un peu plus tard dans ce manuscrit.³⁸ Le dépistage à haut-débit des extraits et la détection de toxines nouvelles sont les principaux avantages. Mais, il est très difficile de mettre au point des méthodes pouvant détecter plusieurs toxines en même temps et les validations pour uniformiser les essais dans les divers laboratoires manquent encore.

³⁷ Gonzales, J. C.; Leira, F.; Fontal, O. I.; Vieytes, M.R.; Arevalo, F. F.; Vieites, J. M.; Bermudez-Puente, M.; Muniz, S.; Salgado, C.; Yasumoto, T. ; Botana, L. M. *Anal. Chim. Acta.* **2002**, *466*, 233-246.

³⁸ Fonfría, E. S.; Vilariño, N.; Espiña, B. ; Louzao, M. C.; Álvarez, M. ; Molgó, J.; Aráoz, R.; Botana, L. M. *Anal. Chim. Acta.* **2010**, *657*, 75-82.

III.2.2 Méthodes biochimiques

Ces techniques immunochimiques sont basées sur l'affinité de reconnaissance entre un anticorps et un antigène. La plus importante d'entre elles est le test ELISA (**E**nzyme-**L**inked **I**mmuno**S**orbent **A**ssay). Ce sont des enzymes qui sont utilisées comme étiquette lors de l'interaction entre la toxine et l'anticorps. Il faut alors faire un compromis entre un anticorps hautement spécifique, qui ne détectera qu'une seule toxine, et un anticorps moins spécifique qui aura alors la capacité de détecter tous les membres d'une famille de toxines. Des tests colorimétriques ont été développés pour les toxines de type DSP,³⁹ PSP,⁴⁰ ASP,⁴¹ NSP⁴² et CFP.⁴³ Le travail de Garthwaite *et al.* est l'un des plus notable puisqu'un seul test ELISA permet de détecter les toxines DSP, PSP, ASP et NSP.⁴⁴

Les tests biologiques de ce genre semblent prometteurs pour les analyses en routine et sont, de surcroît, très sensibles. Pour un coût plutôt faible, il est possible de détecter et de quantifier rapidement les toxines marines. Aucun équipement sophistiqué et aucune qualification spécifique ne sont requis pour effectuer les essais. Des kits ont d'ailleurs déjà été commercialisés pour les toxines DSP,⁴⁵ PSP⁴⁶ et ASP.⁴⁷

III.2.3 Méthodes chimiques

Les techniques chromatographiques ont été largement développées pour la détection des phycotoxines car elles offrent à la fois une séparation, une identification et une quantification des différentes toxines présentes dans l'échantillon. Les limites de détection sont souvent plus basses que celles du test de la souris ce qui constitue un point positif pour une réglementation efficace et fiable. En revanche, ces essais nécessitent des équipements coûteux et des utilisateurs qualifiés.

Chaque année, la situation devient plus compliquée avec la découverte de nouvelles familles de toxines ou de nouveaux analogues. Les phycotoxines produites par les dinoflagellés peuvent aussi être métabolisées dans le coquillage et former de nouvelles structures, toxiques ou non. Ces facteurs, ajoutés au manque d'étalons de référence, rendent l'élaboration des techniques d'analyses difficiles.

³⁹ Kreuzer, M.; O'Sullivan, C.; Guibault, G. G. *Anal. Chem.* **1999**, *71*, 4198.

⁴⁰ Chu, F. S.; Hsu, K. H.; Huang, X.; Barrett, R.; Allison, C. J. *J. Agric. Food Chem.* **1996**, *44*, 4043.

⁴¹ Yu, F.-Y.; Liu, B.-H.; Wu, T.-S.; Chi, T.-F.; Su, M.-C. *J. Agric. Food Chem.* **2004**, *52*, 5334.

⁴² Baden, D. G.; Melinek, R.; Sechet, V.; Trainer, V. L.; Schlutz, D. R.; Rein, K. S.; Tomas, C. R.; Delgado, J.; Hale, L. J. *AOAC Int.* **1995**, *78*, 499.

⁴³ Oguri, H.; Hiram, M.; Tsumuraya, T.; Fujii, I.; Maruyama, M.; Uehara, Y.; Nagumo, Y. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 7608.

⁴⁴ Garthwaite, I.; Ross, K.M.; Miles, C. O.; Briggs, L. R.; Towers, N. R.; Borrell, T.; Busby, P. J. *AOAC Int.* **2001**, *84*, 1643.

⁴⁵ (a) DSP-Check® (<http://www.sceti.co.jp/english/index.asp>) (b) OA-Check® (<http://www.mitsubishichemical.com/index.html>) (c) Rougier Bio-Tech® (<http://www.erfabiotech.com/index.html>)

⁴⁶ Ridascreen® (<http://www.r-biopharmhone.com/index.html>)

⁴⁷ Biosense® (<http://biosense.no/index.asp>)

La chromatographie liquide s'est avérée être l'instrument analytique de choix puisqu'elle fournit une quantification précise et est facilement automatisable. La technique en elle-même ne présente pas de difficultés particulières. Malheureusement, la plupart des toxines, ne possédant pas de chromophore, sont invisibles en UV. Des dérivatisations pré- ou post-colonne ont donc dû être mises en place. Pour l'OA par exemple, une technique de chromatographie liquide couplée à une détection fluorométrique (LC-FLD) a été mise au point. Pour se faire, une étape de dérivation par le 9-antryldiazométhane (ADAM) a été nécessaire pour incorporer des noyaux aromatiques sur la toxine par réaction avec la fonction acide carboxylique de l'OA.⁴⁸ Des méthodes officielles ont d'ailleurs été décrites pour les toxines PSP⁴⁹ et DA.⁵⁰ L'étape de dérivatisation reste l'inconvénient majeur, ce qui rend le processus laborieux et critiquable.

Plus récemment, les efforts se sont portés sur les méthodes tandem de chromatographie liquide et de spectroscopie de masse (LC-MS/MS). Le spectromètre de masse, en plus de fournir les informations sur la masse de la molécule et sur sa structure, peut être utilisé comme un détecteur très sensible et sélectif. De nos jours, beaucoup de méthodes sont disponibles pour analyser les différentes toxines marines. En 2005, des travaux sur la détection du demSPX C par spectroscopie MALDI ont été publiés.⁵¹ Cette technique d'ionisation n'avait aucun précédent dans la détection de toxines, car ces molécules ont souvent des masses moléculaires inférieures à 1000 Da, ce qui rend les analyses non reproductibles. Toutefois, la combinaison d'un spectromètre de masse MALDI possédant trois quadripôles avec un laser haute fréquence a permis de résoudre le problème et de concurrencer les méthodes d'ionisations par électrospray.⁵²

Le challenge principal, maintenant, est donc de créer des méthodes capables de détecter plusieurs classes de toxines en une seule injection. En 2005, deux méthodes de ce type ont été publiées et sont actuellement en cours de validation.^{53,54} L'une d'entre elle inclut d'ailleurs la famille des spirolides. En 2007, une technique de chromatographie liquide à très haute pression (CLHP-MS/MS) a été créée. Avec cette méthode, il est possible d'analyser 21 toxines marines en seulement 6,6 minutes.⁵⁵ Enfin, en 2009, une dernière méthode de détection multi-toxines a été développée.⁵⁶ Grâce à des choix de conditions chromatographiques différentes, de nombreux soucis ont pu être évités. Cette méthode semble très prometteuse et se trouve aussi en cours de validation.

⁴⁸ Lee, J. S.; Yangi, T.; Kenma, T.; Yasumoto, T. *Agric. Biol. Chem.* **1987**, *51*, 877-881.

⁴⁹ AOAC, 18^{ème} édition, méthode officielle 2005.06, Gaithersburg, **2005**.

⁵⁰ AOAC, 18^{ème} édition, méthode officielle 991.26, Gaithersburg, **2005**, 81-82.

⁵¹ Sleno, L.; Volmer, D. A. *Anal. Chem.* **2005**, *77*, 1509-1517.

⁵² Sleno, L.; Windust, A.; Volmer, D. A. *Anal. Bioanal. Chem.* **2004**, *378*, 969-976.

⁵³ McNabb, P.; Selwood, A. I.; Holland, P. T.; *J. AOAC Int.* **2005**, *88*, 761-772.

⁵⁴ Stobo, L. A.; Lacaze, J. P. C. L.; Scott, A. C.; Gallacher, S.; Smith, E. A.; Quilliam, M. A. *J. AOAC Int.* **2005**, *88*, 1371-1382.

⁵⁵ Fux, E.; McMillan, D.; Bire, R.; Hess, P. *J. Chromatogr. A* **2007**, *1157*, 273-280.

⁵⁶ Gerssen, A.; Mulder, P. P. J.; McElhinney, M. A.; De Boer, J. *J. Chromatogr. A* **2009**, *1216*, 1421-1430.

III. 3. Détection de la gymnodimine A et du 13-desmethylspirolide C par polarisation de fluorescence

Les gymnodimines ou les spirolides sont connues pour être des phycotoxines hautement toxiques, mais leur implication dans les intoxications alimentaires humaines n'a encore jamais été établie. Ces toxines sont connues pour engendrer des faux-positifs, au cours du test de la souris, car elles causent la mort des souris en quelques minutes seulement.⁵⁷ Aucune réglementation précise n'a encore été établie, mais la communauté scientifique s'accorde à dire qu'il serait bon de réguler, au moins, les teneurs en spirolides. En dépit de leurs avantages, les méthodes de détection LC-MS actuelles ne permettent la détection que des toxines ayant déjà été identifiées et caractérisées. La polarisation de fluorescence se présente alors comme une méthode alternative de plus en plus en vogue. Généralement, cette technique s'appuie sur la détection de petites molécules grâce à l'inhibition de l'interaction entre une protéine et son ligand.

Botana *et al.* ont récemment travaillé sur une reconnaissance des interactions moléculaires par polarisation de fluorescence pour la détection des spiroimines.^{38,58} Ils ont utilisé des membranes de torpilles enrichies en récepteurs nicotinique de l'acétylcholine (nAChRs) et de l' α -bungarotoxine (α -BTX) fluorescente pour détecter et quantifier la GYM A **8a** et le demSPX C **11e**. L' α -BTX est connue pour être un antagoniste sélectif des nAChRs et le mode d'action biologique des spiroimines sur les nAChRs a été suggéré par l'équipe de Munday en 2004.⁵⁹ Nous reviendrons, plus en détail, sur ce point dans une prochaine partie.

Les membranes enrichies en nAChRs sont prélevées sur les tissus électriques d'un poisson de l'espèce *Triplophysa marmorata*. Celles-ci sont placées dans des plaques multi-puits puis incubées avec une solution contenant la toxine, dans le noir à température ambiante pendant 2 h. L' α -BTX, étiquetée par un pigment fluorescent (Alexa Fluor 488), est alors ajoutée et les mesures de polarisation de fluorescence sont faites après 30 min.

De leur côté, les coquillages sont extraits suivant une procédure spécifique permettant de récupérer environ 90 % des toxines présentes avant l'extraction. L'analyte est ensuite ajouté sur la plaque multi-puits. Le test se base alors sur la compétition entre les spiroimines et l' α -BTX. Plus la concentration en toxine sera forte, plus le pourcentage de liaison de l' α -BTX sur le récepteur sera faible.

⁵⁷ Stirling, D. J. *N. Z. J. Mar. Freshwater Res.* **2001**, 35, 851-857.

⁵⁸ Vilariño, N.; Fonfría, E. S.; Molgó, J.; Aráoz, R.; Botana, L. M. *Anal. Chem.* **2009**, 81, 2708-2714.

⁵⁹ Munday, R.; Towers, N. R.; Mackenzie, L.; Beuzenberg, V.; Holland, P. T.; Miles, C. O. *Toxicon* **2004**, 44, 173-178.

Des courbes d'étalonnage ont été tracées pour les deux toxines (avec des molécules de référence : courbe grise et avec des molécules extraites de moules : courbe noire), permettant ainsi de retrouver les teneurs dans des échantillons inconnus (Figure 10).

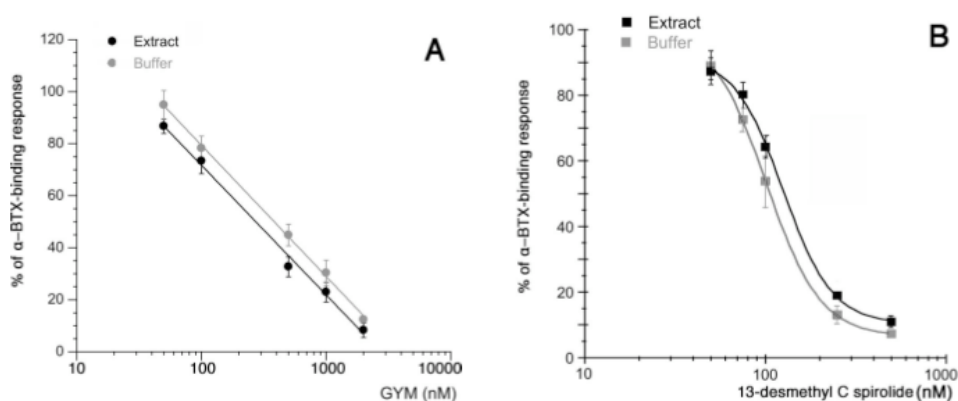


Figure 10: Courbes d'étalonnage pour la quantification de la GYM A et du dem-SPX C

La sensibilité de ce test est de l'ordre du nanomolaire et il a été vérifié que l'acide okadaïque, la yessotoxine et la brevetoxine n'interfèrent pas. Ce nouveau test d'inhibition permet de détecter et de quantifier la GYM A **8a** et le demSPX C **11e** dans des gammes de concentration, dans le coquillage, allant de 50 à 2000 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ et de 70 à 700 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ respectivement.

Dans une seconde étude, plusieurs sortes de coquillages ont été soumises aux extractions : moules, palourdes, coques et coquilles Saint-Jacques puis des courbes d'étalonnage ont de nouveau été tracées. Les valeurs d' IC_{50} mesurées pour le demSPX C **11e** sont toutes proches de celle obtenue avec la molécule de référence. En revanche, pour la GYM A **8a**, les valeurs d' IC_{50} sont plus variables. Les auteurs préconisent donc d'utiliser les courbes de référence correspondant à la matrice de l'échantillon analysé (Tableau 7).³⁸

IC_{50} (nM) DANS DIFFERENTES MATRICES					
TOXINE	PBS-BT	MOULE	COQUE	PALOURDE	COQUILLE ST JACQUE
GYM A	351,5 \pm 55,6	280,3 \pm 44,3	293,1 \pm 47,4	360,0 \pm 55,1	447,7 \pm 39,4
Dem-SPX C	104,6 \pm 9,1	129,3 \pm 7,2	98,5 \pm 5,5	104,4 \pm 2,6	102,8 \pm 2,2

PBS-BT : milieu dans lequel sont diluées les molécules de référence

Tableau 7: IC_{50} du dem-SPX C et de la GYM A dans les extraits de coquillages

IV. Les récepteurs nicotiniques et le mode d'action des spiroimines

IV. 1. Cible présumée

Bien que le mode d'action des spiroimines ne soit pas encore totalement élucidé, un certain nombre d'éléments montrent que ces toxines agiraient sur les récepteurs muscariniques et/ou nicotiniques de l'acétylcholine (respectivement mAChRs et nAChRs). En effet, nous avons vu au cours des études de toxicité sur les rongeurs, que l'administration par voie intrapéritonéale de doses létales de GYM ou de SPX, provoque des troubles neurologiques puis une mort rapide du sujet.

Pour tenter d'élucider le mode d'action des spiroolides, des études histologiques d'organes internes et de cerveau ont été menées conjointement à des techniques d'immunochimie et d'analyses transcriptionnelles utilisant des biomarqueurs de blessures neuronales. Tout ceci a permis à l'équipe de Gill de montrer que ces toxines agissaient différemment selon les espèces animales mais qu'elles ciblaient toujours les mAChRs et nAChRs. Le demSPX C **8e** cause des dommages neuronaux étendus dans le cerveau des souris et un accroissement du taux de transcription des mAChRs et nAChRs chez les rats.⁶⁰

Par ailleurs, certains des symptômes observés après l'injection intrapéritonéale de GYM A **8a** ressemblent à ceux produits par des antagonistes des nAChRs, et ne se manifestent pas lorsque les animaux sont préalablement traités avec des inhibiteurs de l'acétylcholinestérase comme la néostigmine ou la physostigmine.¹⁷ En effet, en inhibant cette enzyme, on augmente la concentration en acétylcholine dans la fente synaptique. Ainsi, le ligand naturel va entrer en compétition avec la GYM A **8a** et par le jeu des concentrations relatives, la GYM **8a** ne viendra pas se fixer sur le récepteur.

Récemment, des travaux complémentaires ont été réalisés par l'équipe de Molgó sur l'action des pinnatoxines⁶¹ et de la GYM A **8a**⁶² sur les récepteurs nicotiniques. Avant de détailler ces travaux sur la GYM A **8a**, la partie suivante rappellera les principales caractéristiques des récepteurs nicotiniques de l'acétylcholine et leurs fonctionnements.

⁶⁰ Gill, S.; Murphy, M.; Clausen, J.; Richard, D.; Quilliam, M.; MacKinnon, S.; LaBlanc, P.; Mueller, R.; Pulido, O. *Neurotoxicology*, **2003**, *24*, 593-604.

⁶¹ Araoz, R.; Servent, D.; Molgó, J.; Iorga, B. I.; Fruchart-Gaillard, C.; Benoit, E.; Gu, Z.; Stivala, C.; Zakarian, A. *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, DOI:10.1021/ja201254c.

⁶² R. Kharrat, D. Servent, E. Girard, G. Ouanounou, M. Amar, R. Marrouchi, E. Benoit, J. Molgó, *J. Neurochem.* **2008**, *107*, 952-963.

IV. 2. Les récepteurs nicotiniques

IV.2.1 Découverte et études préliminaires sur les nAChRs

Dès le début du siècle dernier, John Newport Langley avait postulé l'existence de récepteurs engagés dans la reconnaissance et la transduction de signaux synaptiques chimiques appelés neuromédiateurs.⁶³ Dans ses études, il a montré que la nicotine produisait une contraction tonique de certains muscles de grenouille et que cette contraction était abolie par le curare, fondant ainsi les premières bases théoriques de la pharmacologie moléculaire.

Quelques années plus tard, Loewi et Dale reconnaissent l'acétylcholine comme neurotransmetteur endogène et reçoivent d'ailleurs le prix nobel de physiologie ou médecine en 1936 pour cette découverte. Dale distingue l'action de la muscarine et de la nicotine, et parvient ainsi à différencier deux familles de récepteurs à l'acétylcholine, distinctes pharmacologiquement.⁶⁴ Ces deux produits naturels ont donné leur nom aux deux familles de récepteurs cholinergiques : le récepteur muscarinique (mAChR, récepteur métabotrope à sept segments transmembranaires) et le récepteur nicotinique (nAChR, récepteur ionotrope).

Mais c'est la découverte inattendue d'une source animale riche en nAChRs et d'une nouvelle toxine de venin de serpent qui a permis de grandes avancées sur les nAChRs.⁶⁵ Les organes électriques des raies *Torpedo californica* et des anguilles *Electrophorus electricus* permettent à ces poissons de générer des courants électriques pour tuer leurs proies. Il s'est avéré que 400 g de tissu électrique de poissons frais permettait l'isolement de quelques milligrammes de nAChRs, ce qui a permis d'obtenir des modèles pour l'étude de ces récepteurs. C'est en 1952, que des travaux ont mis en évidence la libération d'acétylcholine, à partir de l'activation nerveuse des synapses de *Torpedo marmorata*.⁶⁶

De son côté, Chen Yuan Lee et ses collaborateurs ont découvert que le venin de cobra contenait un composé capable de bloquer la neurotransmission au niveau de la jonction neuromusculaire, ce qui provoquait la paralysie des animaux mordus par le serpent. Un polypeptide purifié, appelé α -BTX, a montré une très haute affinité et un pouvoir bloquant irréversible pour les nAChRs. Il a également démontré que la D-tubocurarine protégeait le récepteur de l' α -BTX.⁶⁷

⁶³ Langley, J. N. *J. Physiol.* **1907**, 36, 347-384.

⁶⁴ Dale, H. H. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **1914**, 6, 147-190.

⁶⁵ Halliwell, R. F. *Trends Pharmacol. Sci.* **2007**, 28, 214-219.

⁶⁶ Feldberg, W.; Fessard, A. *J. Physiol.* **1942**, 101, 200-216.

⁶⁷ Changeux, J.-P.; Kasai, M.; Lee, C.-Y. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **1970**, 67, 1241-1247.

En 1976, le développement et l'application de la technique du Patch Clamp par Erwin Neher et Bert Sakmann, a permis d'enregistrer l'ouverture et la fermeture du canal ionique.⁶⁸ Ceci leur a d'ailleurs valu l'obtention du prix nobel de physiologie ou de médecine en 1991. Les techniques de clonage des nAChRs,⁶⁹ puis les images remarquables de ces récepteurs, obtenus par microscopie électronique,⁷⁰ ont permis d'observer les cinq sous-unités α , α , β , γ et δ arrangées de manière symétrique autour du canal ionique, le tout perpendiculaire à la membrane. Plus tard, une autre sous-unité a été découverte, remplaçant la sous-unité γ dans le muscle mature des tétrapodes, elle fut appelée ϵ .

IV.2.2 Structure des nAChRs

Le récepteur nicotinique de l'acétylcholine isolé de l'organe électrique de torpille est une protéine hétéropentamérique transmembranaire composée de quatre sous-unités $\alpha_1\beta\gamma\delta$. Il appartient à la grande famille des récepteurs ionotropes porteurs d'une «boucle cystéine» caractéristique. Les deux sites de fixation, d'affinité distincte selon les agonistes ou antagonistes mis en jeu, sont localisés sur les interfaces des sous-unités α - γ et α - δ . Les sous-structures $\alpha_3\beta_2$ et $\alpha_4\beta_2$ jouent un rôle prépondérant sur le fonctionnement pré- et postsynaptique dans le système nerveux central et sa périphérie. Typiquement, la fixation d'un agoniste se produit simultanément sur les deux sites entraînant alors un changement conformationnel. En revanche, les antagonistes compétitifs ne se lient qu'à un seul site bloquant alors l'ouverture du canal.⁷¹

Actuellement, la plus haute résolution (4 Å) de la structure du récepteur complet a été obtenue en 2005 par l'équipe d'Unwin par cryomicroscopie électronique.⁷² Cette résolution ne permet pas de déterminer avec précision les interactions au niveau atomique, mais elle offre néanmoins une description détaillée des récepteurs nicotiniques.

Les nAChRs sont donc composés de cinq sous-unités, qui sont arrangées autour d'un axe de pseudo-symétrie perpendiculaire à la membrane et forment ainsi un canal. La longueur de la protéine est d'environ 160 Å. Il a été mis en évidence que le résidu Trp149, représenté en jaune, était impliqué dans le site de fixation de l'ACh (Figure 11).

⁶⁸ Hamill, O. P. ; Marty, A. ; Neher, E. *Pflug Arch* **1981**, 391, 85-100.

⁶⁹ Mishina, M. *et al. Nature* **1985**, 318, 538-543.

⁷⁰ Miyazawa, A.; Fujiyoshi, Y.; Stowell, M.; Unwin, N. *J. Mol. Biol.* **1999**, 288, 765-786.

⁷¹ Sine, S. M.; Taylor, P. *J. Biol. Chem.* **1981**, 256, 6692-6699.

⁷² Unwin, N. *J. Mol. Biol.* **2005**, 346, 967-989.

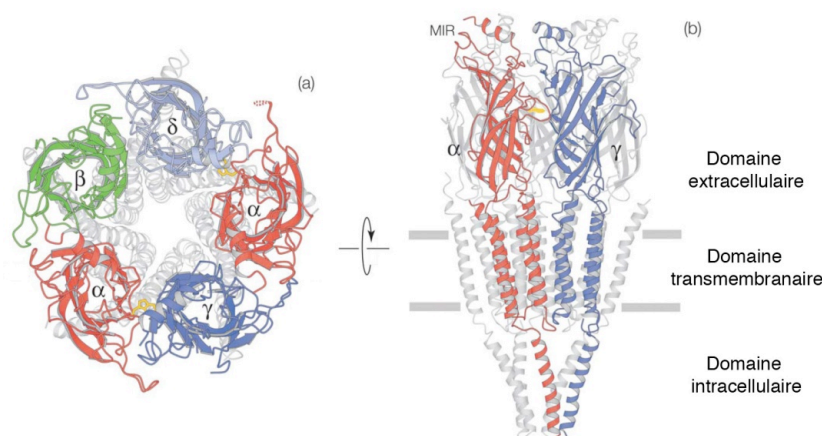


Figure 11 : Structure des nAChRs : Vue de la fente synaptique (à gauche) et coupe transversale perpendiculaire à la membrane (à droite)

IV.2.3 Distribution et expression des différents sous-types de récepteurs

Les nAChRs sont situés dans le cerveau, la moelle épinière, les ganglions des systèmes nerveux orthosympathiques et parasymphathiques et aux jonctions neuromusculaires. Il existe plusieurs types de sous-unités α et β et les récepteurs nicotiniques sont classés en deux grandes catégories : les musculaires, qui sont des hétéromères contenant des sous unités $\alpha 1$, $\beta 1$, γ , δ et ϵ , et les neuronaux, qui peuvent être des homomères (constitués des sous-unités $\alpha 7$ - $\alpha 10$) ou des hétéromères (constitués de plusieurs combinaisons de $\alpha 2$ - $\alpha 6$ et $\beta 2$ - $\beta 4$). L'expression des sous-unités « musculaires » est pratiquement limitée aux tissus musculaires alors que les sous-unités « neuronales » se retrouvent principalement dans le cerveau mais également hors du système nerveux.⁷³

IV.2.4 Mécanisme de fonctionnement

Les récepteurs nicotiniques sont des protéines allostériques au sens du modèle Monod-Wyman-Changeux. Deux concepts avaient alors été mis en évidence. Le premier précise que ces protéines possèdent une structure quaternaire complexe avec des sous-unités agencées de façon symétrique. Le second précise que l'activation de ces sous-unités entraîne des transitions conformationnelles qui affectent l'organisation de la structure quaternaire.⁷⁴

⁷³ Gotti, C.; Clementi, F.; *Progress in Neurobiology* **2004**, 74, 363-396.

⁷⁴ (a) Monod, J.; Wyman, J.; Changeux, J. P. *J. Mol. Biol.* **1965**, 12, 88-118 (b) Changeux, J. P.; Edelstein, S. J. *Science* **2005**, 308, 1424-1428.

Une caractéristique fondamentale de la fonction des récepteurs canaux ionotropes est la rapidité avec laquelle ils s'ouvrent pour permettre le passage des ions à travers la membrane. Cette ouverture, dans le cas du nAChR, fait suite à la liaison d'agonistes dans les sites de l'acétylcholine (ACh). Une fois l'agoniste retiré du milieu, le récepteur peut retourner dans son état de repos initial, et ceci indépendamment du type d'agoniste et de sa concentration. L'application prolongée d'agoniste conduit ensuite le récepteur dans un état réfractaire à toute stimulation : on parle de phénomène de désensibilisation.⁷⁵

Dès les années soixante-dix, Changeux *et al.* ont utilisé un ligand fluorescent afin de mettre en évidence les réorganisations structurales du récepteur nicotinique. Ils ont ainsi pu observer deux états désensibilisés différents ; un état de désensibilisation rapide (noté I, de l'ordre de la milliseconde) et un état de désensibilisation lent (noté D, de l'ordre de la seconde) qui correspondent à un canal fermé.⁷⁶

Les nAChRs sont donc des protéines multimériques qui possèdent à la fois des sites orthostériques et des sites allostériques qui leur permettent une modulation de la réponse. Pour résumer, les récepteurs fluctuent entre trois états structuraux (Figure 12a):

- état basal (ou de repos ou fermé, noté R)
- état actif (ou ouvert, noté A)
- état désensibilisé (notés D et I)

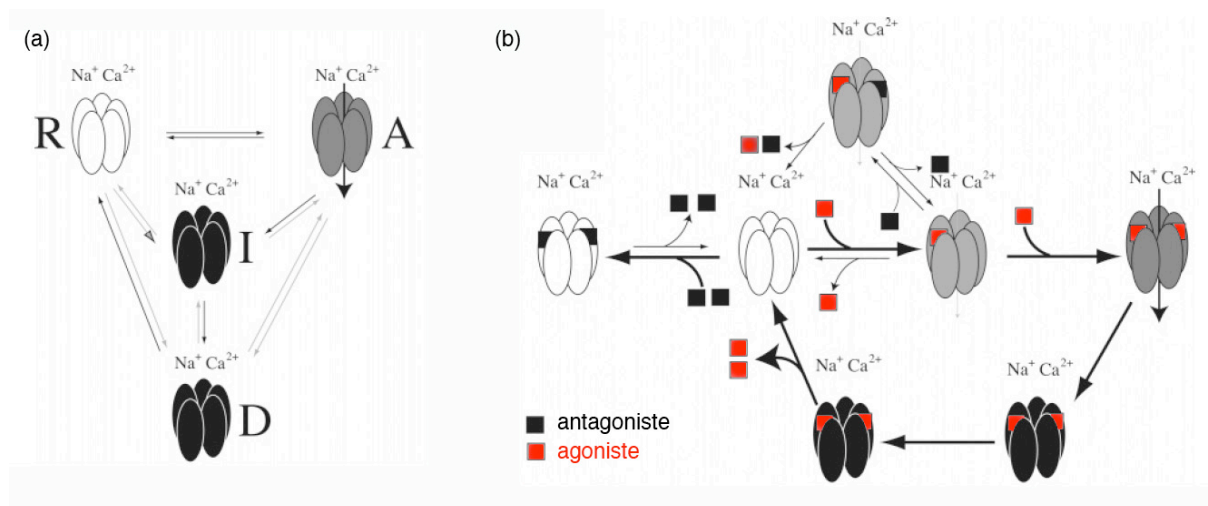


Figure 12 : Fonctionnement des récepteurs allostériques

⁷⁵ Katz, B ; Thesleff, S. *J Physiol* **1957**, 138, 63-80.

⁷⁶ Heidmann, T ; Changeux, J. P. *Biochem Biophys Res* **1980**, 97, 889-896.

La fixation des agonistes induit des changements conformationnels au sein du récepteur entraînant l'ouverture du canal ionique. Le mécanisme probable de fonctionnement est le suivant (Figure 12b). Au début du processus, le canal est fermé et il n'y a pas de passage d'ions (état fermé).

La fixation d'un premier puis d'un second agoniste induit une rotation du domaine transmembranaire, l'ouverture du canal et le passage d'ions (état ouvert). Après un certain temps, le canal se referme progressivement (état désensibilisé) puis les agonistes sont expulsés et le récepteur revient dans l'état fermé, prêt à recommencer le cycle.

De façon générale, un ligand va stabiliser l'état pour lequel il a la plus forte affinité. Ainsi, la liaison des agonistes sur les sites orthostériques stabilise l'état ouvert, alors que la liaison des antagonistes (non compétitifs sur les sites allostériques ou compétitifs sur les sites orthostériques) stabilise les états fermés ou désensibilisés.

Tous les récepteurs de la famille possèdent plusieurs sites de liaison des agonistes (de 2 à 5) et la probabilité d'ouverture du canal augmente en fonction du taux d'occupation de ces sites.⁷⁷ Pour le nAChR musculaire, deux agonistes sont nécessaires pour activer le récepteur et il existe une coopérativité entre les deux sites. L'ouverture du canal est possible à partir de l'état monoligandé ou diligandé, mais elle peut aussi de manière occasionnelle se produire sans présence de ligand.⁷⁸

L'utilisation des techniques de dynamique moléculaire, a permis d'étudier les transformations sur le récepteur pendant les phases d'activation, d'ouverture puis de désensibilisation. L'une des découvertes majeures de cette expérience a été la transmission de l'information du domaine de fixation du ligand au domaine transmembranaire.⁷⁹ La fixation de deux ligands se produit sur des sous-unités non adjacentes et tirent les boucles C de ces deux sous-unités sur le site de liaison. Ceci permet la transmission du mouvement aux feuillet $\beta 10$ du domaine transmembranaire. Les hélices des deux sous-unités pivotent légèrement dans le sens horaire et bougent vers l'extérieur de la structure pentamérique. Au cours de ce processus, la boucle cystéine connectée de manière rigide au feuillet β du domaine de fixation, agit comme pivot autour duquel le domaine transmembranaire peut bouger et tourner (Figure 13).

⁷⁷ Jackson, M. B. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **1984**, *81*, 3901-3904.

⁷⁸ Grossman, C. ; Auerbach, A. *J. Gen. Physiol.* **2000**, *115*, 621-635.

⁷⁹ Law, R. J.; Henchman, R. H.; McCammon, A. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **2005**, *102*, 6813-6818.

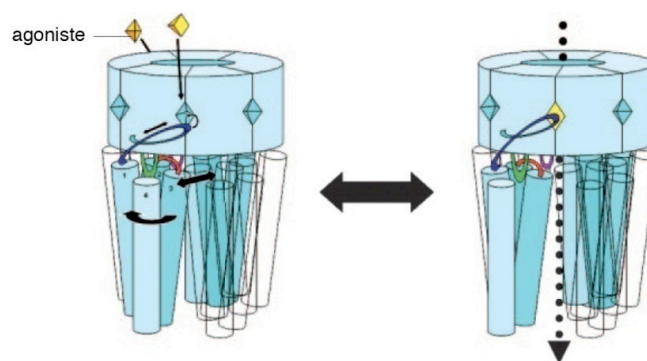


Figure 13 : Illustration du mouvement d'ouverture du canal après fixation des agonistes

IV.2.5 Un modèle de choix : l'AChBP

En 2001, la publication de la structure cristalline de l'« Acetylcholine Binding Protein » (AChBP) représente un tournant dans la compréhension de la structure et du mode d'action des récepteurs nicotiques.⁸⁰ L'AChBP est une protéine soluble isolée de l'escargot *Lymnaea stagnalis*.⁸¹ Elle est produite et stockée dans les cellules gliales et relâchée dans la fente synaptique en présence d'ACh où elle module alors la transmission synaptique.

Cette protéine, formée de 210 résidus, possède une structure pentamérique stable. Presque tous les résidus conservés dans les différents nAChRs sont présents dans l'AChBP, même ceux du site de fixation du ligand. Il s'est également avéré que l'AChBP était capable de lier les agonistes et antagonistes compétitifs connus des nAChRs, comme l'acétylcholine, la nicotine, le D-tubocurarine ou encore l' α -bungarotoxine. Tous ces éléments démontrent que l'AChBP peut être utilisée comme mîme du domaine N-terminal de la sous-unité α des nAChRs. Globalement, l'AChBP ne partage avec les nAChRs qu'une identité séquentielle de 20 à 24% (zones de couleur verte sur la Figure 14).

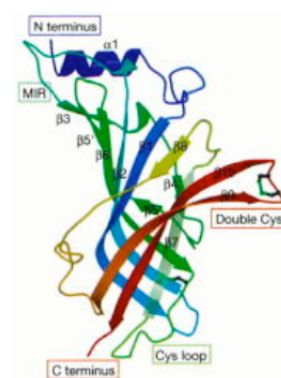


Figure 14 : Homologie structurale entre AChBP et nAChRs

⁸⁰ Brejc, K.; Van Dijk, W. J.; Klaassen, R. V.; Schuurmans, M.; Van Der Oost, J.; Smit, A. B.; Sixma, T. K. *Nature* **2001**, *411*, 269-276.

⁸¹ Smit, A. B.; Syed, N. I.; Schapp, D.; van Minnen, J.; Klumperman, J.; Kits, K. S.; Lodder, H.; van der Schors, R. C.; van Elk, R.; Sorgedrager, B.; Brejc, K.; Sixma, T. K.; Geraerts, W. P. *Nature* **2001**, *411*, 261-268.

L'AChBP possède un rôle naturel dans la modulation de la transmission synaptique mais ne possède pas le canal transmembranaire. La fixation d'un ligand ne provoque donc pas l'ouverture d'un canal mais certains mouvements peuvent toutefois être conservés. C'est grâce à cette différence notable que l'AChBP se trouve plus soluble que les nAChRs et que les études de cristallographie par rayons-X ont pu être réalisées.

Malgré tout, cette homologie structurale permet à l'AChBP d'être un modèle fiable pour les études de modélisation.^{82,83} D'autre part, plusieurs structures cristallines de l'AChBP complexées avec différents ligands ont été obtenues, que se soit avec des agonistes comme la nicotine ou la carbamylcholine⁸⁴ ou des antagonistes comme l' α -cobratoxine.⁸⁵

IV. 3. Action de la gymnodimine

IV.3.1 Toxicité de la (-)-gymnodimine A

Récemment, les travaux de Molgó *et al.* ont confirmé que la GYM A **8a** était un puissant antagoniste des récepteurs nicotiniques neuronaux et musculaires.⁸⁶ Dans un premier temps, une vérification des valeurs de toxicité décrites dans la littérature a été réalisée grâce à des palourdes de type *Ruditapes decussatus*, collectées dans différentes productions. Après extraction et purification par HPLC, la dose létale 50 (DL₅₀) par injection intrapéritonéale de la GYM A **8a** a été évaluée à 80 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ sur des souris de genre Swiss Webster. Il est à noter que cette valeur est un peu plus faible que les données précédemment décrites (96 $\mu\text{g.kg}^{-1}$).¹⁷

IV.3.2 Action sur des préparations de souris et grenouilles

Molgó *et al.* ont par la suite réalisé une expérience sur des préparations de diaphragmes de souris.⁸⁶ Elle a montré que la GYM A **8a**, suite à une stimulation nerveuse, bloquait les nAChRs en fonction du temps et de la concentration. La courbe de doses-réponses résultante a été comparée à celle de la tubocurarine, puissant antagoniste des récepteurs nicotiniques neuromusculaires de l'acétylcholine (Figure 15).

⁸² Le Novère, N.; Grutter, T.; Changeux, J. P. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2002**, *99*, 3210-3215.

⁸³ Dutertre, S.; Lewis, R. J. *Eur. J. Biochem.* **2004**, *271*, 2327-2334.

⁸⁴ Celie, P. H.; van Rossum-Fikkert, S. E.; van Dijk, W. J.; Brejc, K.; Smit, A. B.; Sixma, T. K. *Neuron* **2004**, *41*, 907-914.

⁸⁵ Nirthanan, S.; Gwee, M. C. E. *J. Pharmacol. Sci.* **2004**, *94*, 1-17

⁸⁶ Kharrat, R.; Servent, D.; Giraig, E.; Ouanounou, G.; Amar, M.; Marrouchi, R.; Benoit, E.; Molgó, J. *J. Neurochem.* **2008**, *107*, 952-963.

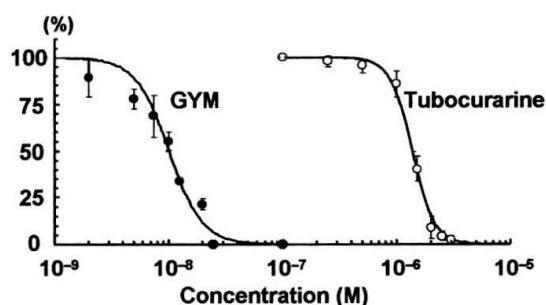


Figure 15 : Courbes dose-réponse pour la (-)-gymnodimine et la tubocurarine obtenues par stimulation nerveuse de préparations de diaphragmes de souris

Il se dégage de ces courbes, que la concentration donnant 50 % de l'effet maximum (CE_{50}) est de 10.2 ± 0.7 nM pour la GYM A **8a** alors qu'elle est de 1300 ± 100 nM pour la tubocurarine. En d'autres termes, pour avoir le même blocage, il est nécessaire d'utiliser une quantité 135 fois plus importante de tubocurarine que de GYM A **8a**. Ce blocage est persistant 30 minutes, mais peut être annihilé par un lavage de la membrane alors qu'il est irréversible avec les neurotoxines issues de venins de serpents ayant de fortes affinités avec les nAChRs.⁸⁵ Grâce à cette étude, le blocage de la transmission neuromusculaire par la GYM A **8a** a été confirmé.

IV.3.3 Blocage des récepteurs nicotiniques neuronaux et musculaires

Ces études ont été réalisées par électrophysiologie et plus particulièrement par la technique du patch-clamp.⁸⁷ Ce terme anglais désigne une technique électrophysiologique d'enregistrement des courants ioniques transitant à travers les membranes cellulaires. Cette technique consiste à mettre en continuité électrique une micro-pipette en verre (diamètre de contact de l'ordre de 1 μ m) remplie d'une solution ionique de composition définie avec la membrane d'une cellule vivante isolée. Cette technique permet d'étudier les mécanismes de fonctionnement des canaux ioniques d'une cellule prise individuellement en permettant le suivi en direct des phénomènes d'ouverture des canaux.

IV.3.3.1 Blocage des récepteurs nicotiniques musculaires

Grâce à l'utilisation de myocytes d'embryons de Xénope,⁸⁸ bien connues pour exprimer les nAChRs à leurs surfaces, ils ont pu confirmer que la GYM A **8a** bloquait bien les récepteurs nicotiniques de type musculaire. En effet, pour un potentiel de membrane de -90 mV, la mesure du courant nicotinique produit par l'ACh après la perfusion de 100 nM de toxine est quasi nulle (Figure 16, courbe ii). Après une période de 30 min ou après un lavage, ce courant revient à la normale (courbe i).⁸⁶

⁸⁷ Jackson, M. B. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **1984**, *81*, 3901-3904.

⁸⁸ La Xénope est une grenouille.

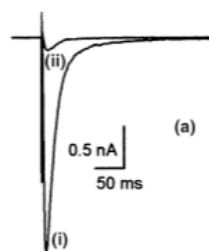


Figure 16 : Blocage par la GYM des courants nicotiniques provoqués par l'ACh dans les myocytes de Xénope

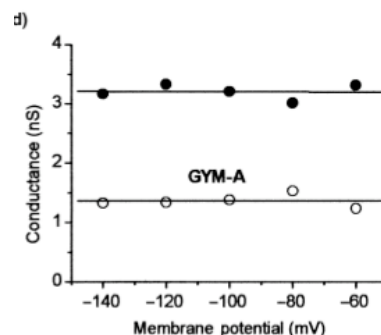


Figure 17 : Conductance mesurée en fonction du potentiel de membrane appliqué avant (rond noir) et après (rond blanc) l'action de 10 nM de GYM.

D'autre part, ce blocage n'est pas affecté par le potentiel de membrane imposé puisque les valeurs de conductance restent constantes quelque soit la tension appliquée (Figure 17).

IV.3.3.2 Blocage des récepteurs nicotiniques neuronaux

Afin de vérifier que la GYM A **8a** agissait également sur les récepteurs de type neuronaux, des expériences ont été menées sur des ovocytes de Xénope ayant subi une incorporation d'ADN complémentaire codant pour le gène du récepteur de type $\alpha 7$. Par une technique similaire de patch-clamp, Molgó *et al.* ont montré que la GYM A **8a** bloquait les récepteurs pendant 10-15 minutes.⁸⁶

IV.3.3.3 Comparaison de deux spiroimines par électrophysiologie

Les concentrations d'inhibition 50 (IC_{50}) de deux toxines de type spiroimine ont été déterminées par électrophysiologie. Le demSPX C **11e** et la GYM A **8a** ont montré de grandes affinités et un fort potentiel antagoniste sur les nAChRs de type neuronaux et musculaires.⁸⁹

Le demSPX C **11e** n'a pas d'activité agoniste sur les ovocytes exprimant $(\alpha 1)_2\beta\gamma\delta$ et $\alpha 4\beta 2$ mais cette toxine induit une diminution du courant nicotinique caractéristique de l'effet antagoniste. Cette activité n'est d'ailleurs toujours pas abolie après 30-40 min de rinçage. La GYM A **8a** montre également un effet antagoniste, mais elle est facilement éliminée par lavage.

⁸⁹ Bourne, Y.; Radic, Z.; Araújo, R.; Talley, T. T.; Benoit, E.; Servent, D.; Taylor, P.; Molgó, J.; Marchot, P. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **2010**, *107*, 6076-6081.

	IC ₅₀ SUR LE RÉCEPTEUR MUSCULAIRE DE TORPILLE ($\alpha 1$) ₂ $\beta\gamma\delta$	IC ₅₀ SUR LE RÉCEPTEUR NEURONAL HUMAIN $\alpha 4\beta 2$
demSPX C	0,51 (0,4 - 0,6) nM	3,9 (2,9 - 5,1) nM
GYM A	2,8 (1,9 - 4,1) nM	0,9 (0,6 - 1,2) nM

Valeurs correspondant à un intervalle de confiance de 95%

Chaque condition est répétée sur 24 ou 36 ovocytes

Tableau 8 : Concentration d'inhibition 50 du 13-desmethyl spirolide C et de la gymnodimine A

Toutefois, que ce soit pour le demSPX C **11e** ou la GYM A **8a**, les sélectivités pour un sous-type de récepteur sont limitées. La mesure relative du courant nicotinique en fonction des différentes concentrations en toxine a permis de déterminer les valeurs d'IC₅₀, toutes de l'ordre du nanomolaire (Tableau 8). Les similitudes entre le demSPX C **11e** et la GYM A **8a** sur les récepteurs nicotiniques de type neuronaux et musculaires, montrent que le mode d'action peut probablement être généralisé aux autres phycotoxines de la famille.

IV.3.4 Etude de compétition avec des ligands marqués

Des études de compétition de fixation de la GYM A **8a** sur des cellules de type HEK293⁹⁰ exprimant différents types de récepteurs nicotiniques avec des ligands marqués (¹²⁵I) α -BTX pour les récepteurs musculaires et [³H]épibatidine pour les récepteurs neuronaux) ont été réalisées. Elles permettent de mesurer l'affinité de l'antagoniste avec le récepteur (Tableau 9).

	RÉCEPTEURS DE TYPE MUSCULAIRE		RÉCEPTEURS DE TYPE NEURONAL	
	($\alpha 1$) ₂ $\beta\gamma\delta$	$\alpha 7$ -5HT ₃	$\alpha 3\beta 2$	$\alpha 4\beta 4$
IC ₅₀ (nM)	1,38 ± 0,19	0,33 ± 0,08	6,25 ± 1,1	15,5 ± 0,19

Tableau 9: Compétition entre la (-)-gymnodimine A et un ligand fluorescent pour la fixation avec différents sous-types de récepteurs exprimés dans des cellules HEK293

⁹⁰ Les cellules HEK (Human Embryonic Kidney) sont des cellules mutées par l'ADN du type de récepteur souhaité.

Il apparaît clairement que pour chaque sous-types de récepteurs, les affinités sont très élevées. Ceci indique que la GYM A **8a** n'est pas spécifique d'un sous-type de récepteur en particulier et que le site d'interaction entre le ligand et le récepteur se fait sur une séquence présente à la fois sur les récepteurs de type neuronaux et sur les récepteurs de type musculaires. On note tout de même une activité subnanomolaire pour le sous-type $\alpha 7$ -5HT₃.⁸⁶

Une étude comparative entre le demSPX C **11e** et la GYM A **8a** a été effectuée avec la même méthode. Sur la sous-unité $\alpha 3\beta 2$, le demSPX C **11e** est dix fois plus afin que la GYM A **8a** alors que sur les sous-unités $(\alpha 1)_2\beta\gamma\delta$ et $\alpha 4\beta 4$, il y a peu de différence. Le mode d'interaction de ces toxines semble donc être le même selon les différents sous-type de nAChRs.⁸⁹

V. Etudes de binding et de co-cristallisation

V. 1. Co-cristallisation de la gymnodimine avec l'AChBP

En 2010, des structures cristallines des phycotoxines GYM A **8a** et demSPX C **11e** liées à l'AChBP ont pu être obtenues avec une résolution de 2,4-2,5 Å.⁸⁹ La poche de fixation du ligand comporte cinq chaînes latérales aromatiques riches en électrons grâce à la présence des résidus Tyr93, Trp147, Tyr188, Tyr195 du côté de la face (+) de la membrane et du résidu Tyr55 du côté de sa face (-). Cette poche se trouve partiellement abritée du solvant par la boucle C qui se trouve à l'extérieur du pentamère.

Les deux toxines montrent des orientations similaires, bien que la GYM A **8a** adopte une forme plus compacte que le demSPX C **11e**. Les modes de liaisons des toxines à la protéine sont très proches, c'est pourquoi nous ne développerons, dans cette partie, que le complexe GYM A-AChBP (Figure 18).

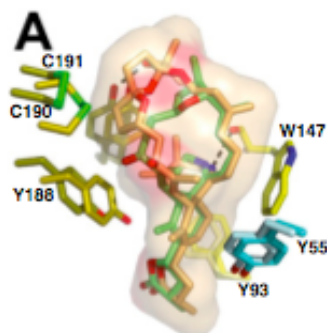


Figure 18 : Superposition du demSPX C (en orange) et de la GYM A (en vert) après complexation avec l'AChBP

Ce complexe adopte une forme conique, de dimension 13 x 6 x 6 Å et se retrouve enveloppé dans le segment Gln186-Tyr195 de la boucle C de la protéine. La branche porteuse de la fonction hydroxyle se retrouve liée par une liaison de Van der Waals à la Tyr195 et à la Cys190 de la boucle C alors que le motif tétrahydrofurane interagit avec la Val108 et la Val148 de la boucle E sur sa face (-) et avec la Tyr195 sur sa face (+). Du côté membranaire, la boucle C permet des interactions supplémentaires avec le cycle butyrolactone grâce aux liaisons hydrogène avec la Lys143 et la Tyr188 et à la liaison de Van der Waals avec la Tyr93. Comme pour le demSPX C **11e**, la GYM A **8a** n'interagit que très peu avec la boucle F de l'AChBP (Figure 19).

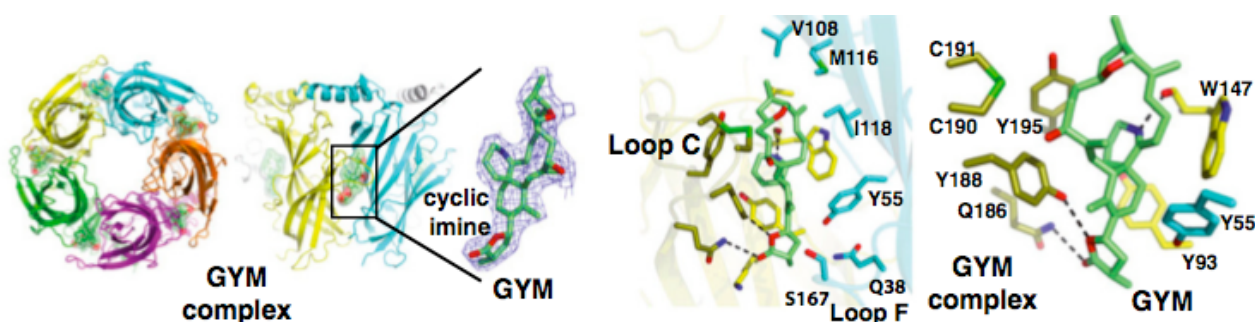


Figure 19 : Vue globale du complexe pentamérique formé par la (-)-gymnodimine A et l'AChBP (à gauche) et aperçu des sous-unités liant la toxine (à droite)

L'imine cyclique centrale de la GYM A **8a** se trouve sous sa forme protonée et se recouvre très bien avec celle du demSPX C **11e**, mais l'absence de l'encombrant motif bis-spiroacétal permet à la gymnodimine d'adopter une conformation plus aplatie dans la poche de fixation. Sur le spirolide **11e**, le bis-spiroacétal se courbe de façon à trouver une position confortable dans la poche de fixation. Cette comparaison met en exergue la capacité d'adaptation de la boucle C pour respecter les caractéristiques chimiques du ligand.

Le mode de fixation du spirolide **11e** et de la gymnodimine **8a** définit la forte affinité et la sélectivité limitée de ces ligands pour les nAChRs. En effet, ces deux toxines s'impliquent peu dans les domaines variables de la boucle F, mais les structures macrocycliques de ces toxines s'assurent un positionnement idéal grâce à l'imine cyclique. D'autre part, les chaînes oxygénées de ces molécules permettent un positionnement stratégique et un recouvrement important avec la surface de la protéine.

Ces études de co-cristallisation apportent des éléments de réponse essentiels sur les relations entre les structures des toxines et leurs toxicités. Ces complexes montrent l'importance du motif spiroimine pour la fixation à l'AChBP ou aux nAChRs et expliquent la non-toxicité des spiroolides E et F dont la fonction imine est hydrolysée. De plus, la perte totale d'activité observée lors de la réduction de la gymnodimine **8a** en gymnodamine **9**, place l'imine cyclique au rang de fonction clé pour une bonne activité. Celle-ci assure la formation de la liaison hydrogène avec l'oxygène du carbonyle du Trp147 de la protéine. Cependant, la position défavorable du méthylène en C17 et de la fonction alcool en C18 de la GYM B **8b** pourrait entraîner une gêne stérique avec la boucle E et expliquer la diminution par 10 de l'activité chez la souris. Finalement, la perte de toxicité sur les spiroolides H et I, possédant la spiroimine mais un spiroacétal dans le macrocycle, reste encore à élucider.⁸⁹

D'après les études des équipes de Bourne et de Taylor, la sélectivité sur les différents sous-type de récepteurs se joue sur la boucle F.⁹¹ En effet, de grandes différences dans les séquences d'acides aminés sont présentes sur ces parties des récepteurs. Des antagonistes interagissant avec cette boucle pourrait donc être des cibles potentielles pour la conception de molécules plus sélectives d'un sous-type de récepteur.

V. 2. Modélisation moléculaire et étude de binding

Les interactions moléculaires de la GYM A **8a** et du 13-desmethyl spiroolide C **11e** avec l'AChBP ont été explorées par des techniques de modélisation moléculaire.⁹² Les coordonnées initiales de la protéine ont été déduites du travail de co-cristallisation effectué par Bourne *et al.*^{89,91} Les conformations des ligands ont été construites par un docking moléculaire qui a permis de conserver la plupart des centres chiraux des deux molécules. Comme nous l'avons déjà vu, les travaux de Stewart *et al.* ont permis de fixer une configuration (*S*) sur le carbone C4 de la GYM A **8a** par des études de rayons-X ; alors que les travaux de Ciminiello *et al.* en RMN et modélisation moléculaire ont conduit à la configuration (*R*) de ce même carbone sur le demSPX C **11e**. Dans cette étude, c'est la configuration (*S*) qui semble la plus probable d'après les données expérimentales disponibles à ce jour.

Comme aucun logiciel de docking ne permet de travailler avec des macrocycles flexibles, il a d'abord fallu construire les conformations actives des deux toxines. C'est une stratégie en deux étapes qui a été réalisée : recherche de tous les conformères possibles puis procédure de docking sur chacune d'elle. Le meilleur modèle a alors été sélectionné pour les simulations de dynamiques moléculaires (DM) du complexe protéine/ligand. Plusieurs DM ont été effectués, avec ou sans la présence du ligand, et avec deux structures d'AChBP différentes.

⁹¹ Hibbs, R. E.; Sulzenbacher, J. S.; Talley, T. T.; Conrod, S.; Kem, W. R.; Taylor, P.; Marchot, P.; Bourne, Y. *The EMBO Journal* **2009**, *28*, 3040-3051.

⁹² Araújo, R.; Chabaud, L.; Guillou, C.; Molgó, J.; Iorga, B. I. *Rencontres en Toxinologie, édition de la SFET*, **2010**, 109-114.

Lors de la modélisation de la GYM A **8a** avec l'AChBP, un léger mouvement de fermeture de la boucle C a été observé de façon à envelopper au mieux la toxine. Une nouvelle liaison hydrogène entre la sérine 189 et la fonction alcool de la toxine est créée. La liaison hydrogène entre l'imine et l'oxygène du carbonyle du Trp147 est conservée alors que celles qui sont entre le cycle butyrolactone et les chaînes secondaires des résidus Gln 186 et Tyr188 sont perdues (Figure 20, à gauche).

De la même façon, la modélisation du demSPX-C **11e** avec l'AChBP, permet de visualiser un faible mouvement de la boucle C. Les liaisons hydrogènes entre l'imine et le Trp147 et entre la fonction alcool en C19 et la Tyr195 sont conservées pendant la simulation. En revanche, les liaisons entre le cycle butyrolactone et les résidus Lys143 et Tyr 188 sont rompues (Figure 20, à droite).

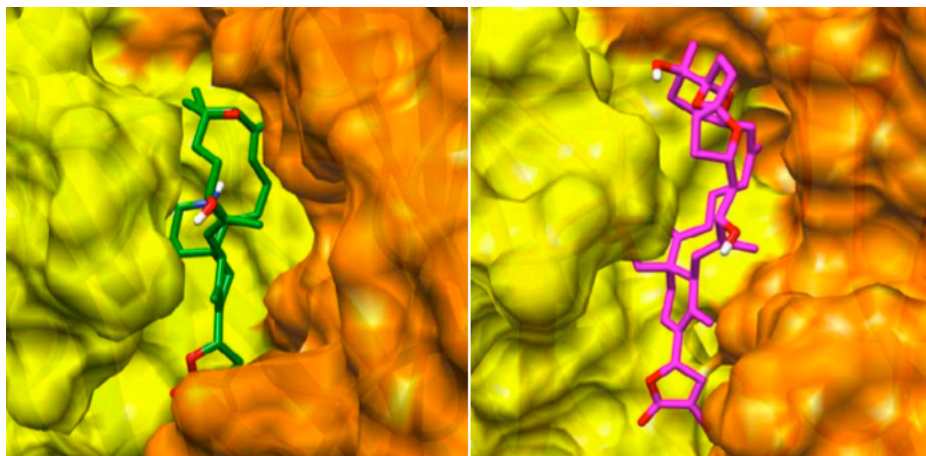


Figure 20 : Simulation de dynamique moléculaire de 20 ns de la (-)-gymnodimine A (en vert, à gauche) et du 13-desméthylspiroside C (en magenta, à droite)

Ces simulations ont permis de mieux comprendre les interactions protéines/ligand et d'observer notamment, le rôle essentiel des fonctions imines de ces deux toxines dans la stabilisation du complexe. Le cycle butyrolactone ne semble avoir, quant à lui, qu'une contribution limitée.

VI. Conclusion

La gymnodimine appartient à une classe de phycotoxines émergentes issues d'algues marines. Bien que n'ayant pas encore de preuves de leurs implications dans des problèmes d'intoxications alimentaires, ces «toxines à action rapide» ont montré une forte toxicité chez les souris, surtout par voie intrapéritonéale.

La législation actuelle est encore peu précise sur les teneurs limites en toxines dans les aliments et sur les méthodes de détection à employer. Face aux controverses que suscite le test de la souris, des méthodes alternatives ont été envisagées, comme le test ELISA ou les techniques analytiques. Une méthode de détection de la GYM A **8a**, basée sur la polarisation de fluorescence, a d'ailleurs été mise au point par l'équipe de Botana.

Tous les résultats d'électrophysiologie ou de compétition de ligands, montrent que la GYM **8a** est un excellent outil pharmacologique pour l'étude structurale des récepteurs nicotiniques. De part sa faible sélectivité, son spectre d'action est plus large que les alcaloïdes, les terpènes ou les toxines peptidiques. La gymnodimine A **8a** pourrait ainsi devenir une référence pour évaluer une activité neurotoxique globale.

Les études très récentes de modélisation moléculaire et de co-cristallisation avec l'AChBP ont permis d'éclaircir les interactions entre la gymnodimine et la protéine et de mettre en avant l'importance du motif spiroimine sur ces structures complexes. Mais comment pouvons-nous accéder à ces imines cycliques ? Quelles sont les stratégies de synthèse qui ont déjà été envisagées dans la littérature ? C'est ce qui est présenté dans le chapitre suivant.

Chapitre 2 : Les phycotoxines de la famille des spiroimines : approches synthétiques

Chapitre 2 : Les phycotoxines de la famille des spiroimines : approches synthétiques

I. Hypothèse biomimétique

Les micro-organismes et les algues, issus du monde marin, renferment une incroyable richesse de molécules en terme de structures et d'activités biologiques. Les dinoflagellés, aussi connus sous le nom d'algues rouges ou toxiques, sont responsables de la production d'un grand nombre de molécules complexes, comme les macrolides, les polyéthers ou les spiroimines. L'origine biosynthétique de la plupart de ces métabolites a souvent été étudiée grâce à des expériences de marquage isotopique et discutée à travers des revues.⁹³

En 1995, Uemura *et al.* ont proposé une biogénèse de la PnTX A **15a** à partir de polycétides. Ces métabolites secondaires proviennent de la condensation itérative de sous-unités « acétyles » ou « malonyles » par des enzymes spécialisées appelées « polycétides synthase » (PKS).²⁸ Ils ont suggéré, comme étape clé pour la biosynthèse de cette toxine, une réaction de Diels-Alder intramoléculaire sur l'intermédiaire **17** permettant la formation du motif cyclohexène **18** de la spiroimine (Schéma 2). Il est important de noter que cette réaction permet la formation simultanée de deux centres asymétriques contigus et notamment celle du centre quaternaire du motif spiroimine.

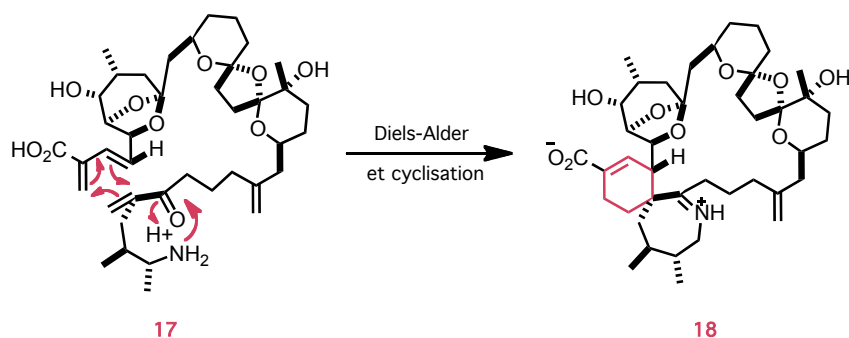


Schéma 2 : Hypothèse biosynthétique de la pinnatoxine A

Récemment, Walter *et al.* ont publié des travaux sur la biosynthèse du demSPX C **11e** à partir de molécules marquées (Schéma 3).⁹⁴ Différentes cultures de dinoflagellés *Alexandrium ostenfeldii* complétées par des unités [1,2-¹³C₂]acétate, [1-¹³C₂]acétate, [2-¹³C₂]acétate et [1,2-¹³C₂, ¹⁵N]glycine ont permis une étude complète des incorporations des différentes unités marquées.

⁹³ (a) Moore, B. S. *Nat. Prod. Rep.* **2005**, 22, 580-593 (b) Moore, B. S. *Nat. Prod. Rep.* **1999**, 16, 653-674.

⁹⁴ MacKinnon, S. L.; Cembella, A. D.; Burton, I. W.; Lewis, N.; LeBlanc, P.; Walter, J. A. *J. Org. Chem.* **2006**, 71, 8724-8731.

La confirmation de l'hypothèse selon laquelle la famille des spiroimines avait pour origine les polycétides a ainsi pu être établie. Il a aussi été montré qu'une incorporation de glycine avait lieu dans la partie imine cyclique.

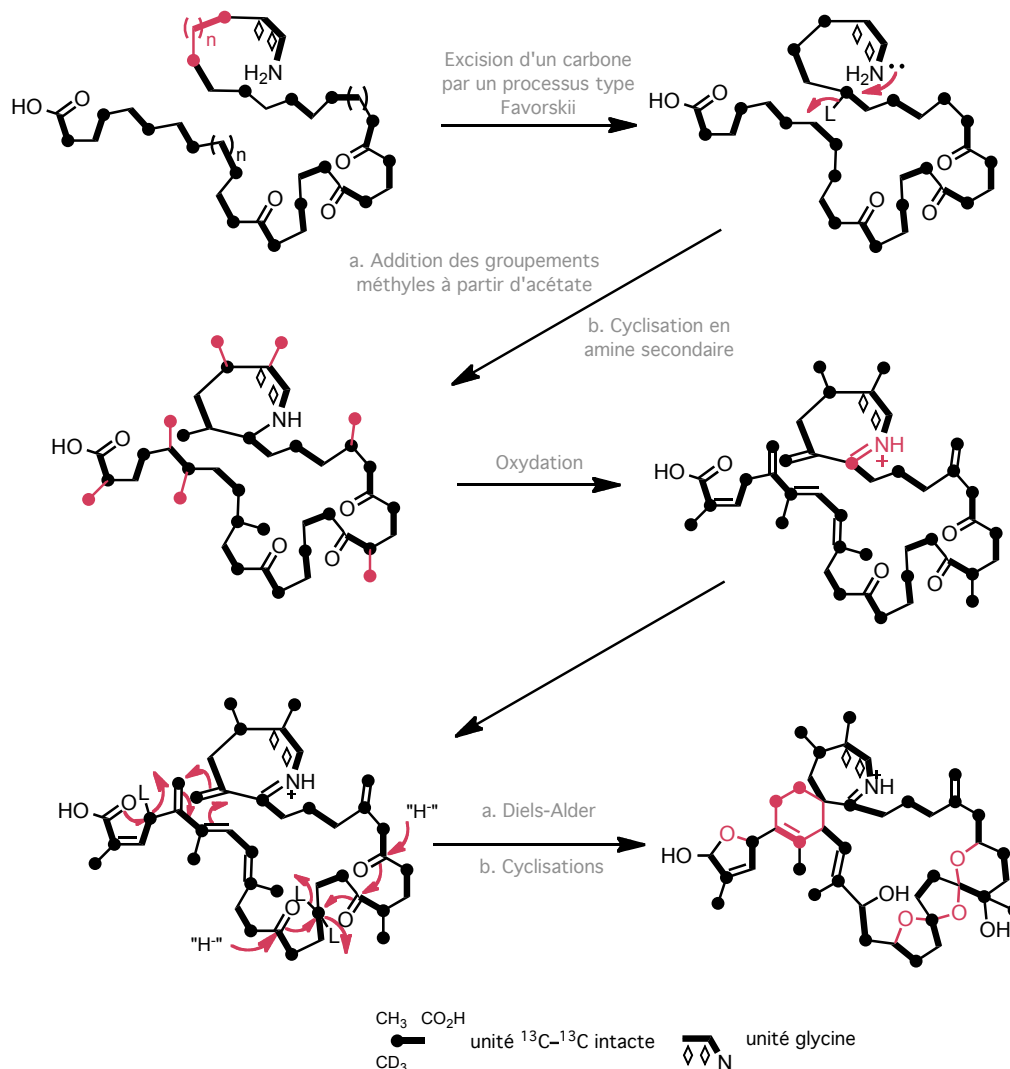


Schéma 3 : Biosynthèse du 13-déméthylspirolide C 11e

Cette voie biomimétique commencerait par une unité glycine sur laquelle se lieraient les motifs acétate de manière unidirectionnelle. Après des étapes clés comme l'excision d'un carbone et la réaction de Diels-Alder, on obtiendrait le demSPX C 11e (Schéma 3). Aucune étude de biosynthèse n'a été faite sur la GYM A 8a, mais tous ces résultats étant cohérents avec les hypothèses d'Uemura, ils devraient logiquement être extrapolables aux molécules de la famille des GYM, PnTX et PtTX.

Nous allons voir que les chimistes se sont donc largement inspirés de cette hypothèse biomimétique afin d'élaborer des stratégies de synthèse efficaces de ces composés. Nous détaillerons les synthèses des principales molécules de la famille des spiroimines en focalisant notre attention sur la manière dont a été créé le centre quaternaire ainsi que sur quelques réactions clés élégantes et originales.

II. Approches synthétiques des gymnodimines

II. 1. Synthèse de spiroimines racémiques par Brimble *et al.*

Cette stratégie repose sur deux étapes-clé pour obtenir les spirolactames **22** : une double alkylation d'un lactame **19** et une réaction de métathèse cyclisante (RCM) avec le catalyseur de Grubbs I **21** (Schéma 4).⁹⁵ Après protection de la fonction lactame secondaire par un groupement silylé de type TEOC,⁹⁶ les spiroimines **25** désirées ont été obtenues en deux étapes. La première est une réduction de **24** en hémiaminal par le triéthylborohydrure de lithium ; la seconde est la formation de l'imine après la déprotection du groupement TEOC par le TBAF.⁹⁷

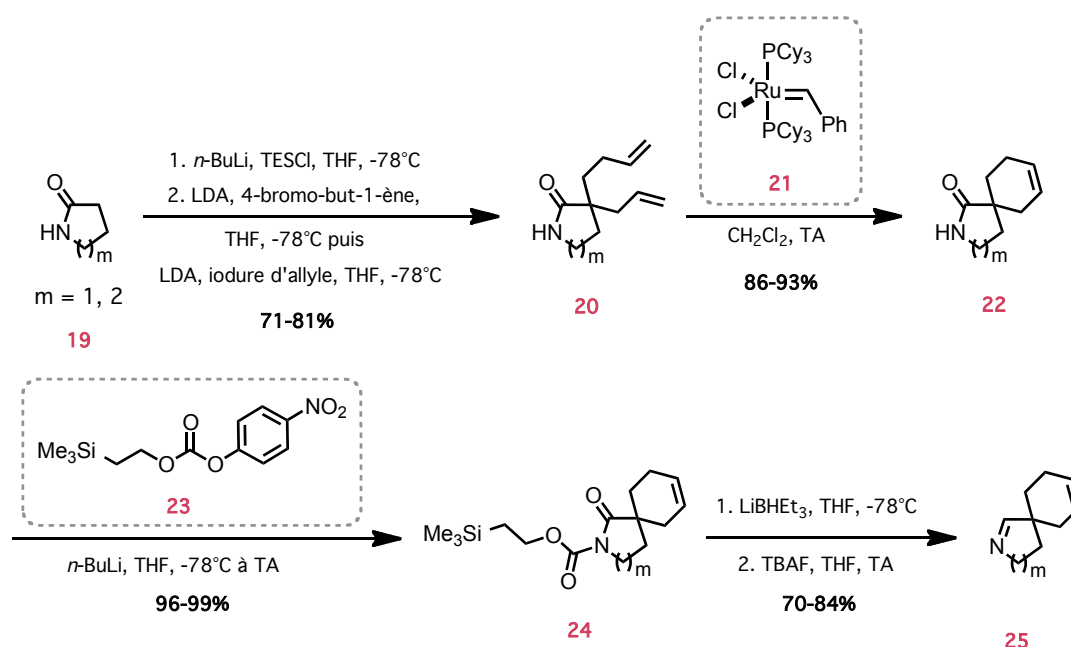


Schéma 4 : Synthèse d'imines spirocycliques racémiques

Cette stratégie ouvre une voie d'accès rapide à des spiroimines racémiques sans substituant sur l'imine. Très récemment, une autre stratégie basée sur une hydroamination intramoléculaire d'alcynes quaternaires, catalysée par l'or, a été développée par le groupe de Brimble.⁹⁸ Nous allons aborder maintenant les synthèses énantiosélectives qui ont été décrites dans la littérature.

⁹⁵ (a) Trzoss, M.; Brimble, M. A. *Synlett* **2003**, 13, 2042-2046. (b) Brimble, M. A.; Trzoss, M. *Tetrahedron* **2004**, 60, 5613-5622.

⁹⁶ Carpino, L. A.; Tsao, J. H.; Ringsdorf, H.; Fell, E.; Hettrich, G. *Chem. Commun.* **1978**, 358-359.

⁹⁷ Grieco, P. A.; Kaufman, M. D. *J. Org. Chem.* **1999**, 64, 6041-6048.

⁹⁸ Yanchuan, C. Z.; Furkert, D. P.; Guéret, S. M.; Lombard, F.; Brimble, M. A. *Tetrahedron Lett.* **2011**, 52, 4896-4898.

II. 2. Approche énantiosélective de Kishi *et al.*

Kishi et son équipe ont travaillé sur une synthèse biomimétique du squelette de la GYM A **8a**. En effet, le cœur spiroimine de la molécule a été créé par une réaction de Diels-Alder intramoléculaire avec un iminium α , β -insaturé comme diénophile.⁹⁹

Pour se faire, ils se sont basés sur les travaux de MacMillan *et al.* qui ont publié la première réaction de Diels-Alder entre une cétone α , β -insaturée **26** et un diène **29** catalysée par une amine secondaire chirale **27**.¹⁰⁰ L'activation d'une cétone sous la forme d'un iminium **28** plus réactif, permet une réaction à température ambiante (Schéma 5).

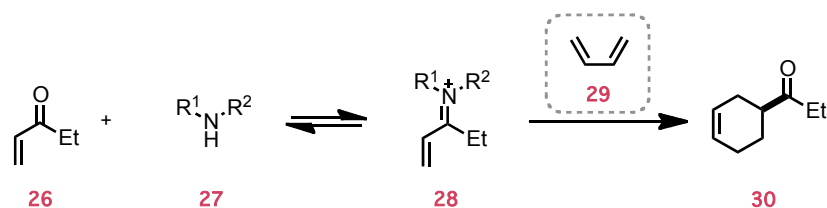


Schéma 5 : Réaction de Diels-Alder catalysée par une amine secondaire

Les premiers essais de macrocyclisation avec des cétones α , β -insaturées dans un solvant organique, n'ont malheureusement pas conduit au produit *exo* attendu mais seulement à l'isomère *endo* non désiré.¹⁰¹

Pour contourner le problème, la spiroimine α , β -insaturée **32** a été formée avant d'être engagée directement dans la réaction de Diels-Alder (Schéma 6).¹⁰² La macrocyclisation a été conduite à une concentration de 60 μ mol en milieu aqueux tamponné (pH 6.5). Un mélange complexe de trois produits a été obtenu contenant une spiroimine et deux céto-amines diastéréomères. Pour simplifier les analyses, la deuxième spiroimine a été reformée par chauffage du mélange réactionnel dans du benzène en présence de tamis moléculaire, conduisant à un mélange 1:1 des spiroimines *endo*-**33** et *exo*-**33**.

De façon surprenante, l'isomère non désiré *endo*-**33** n'est pas stable dans l'eau, et l'imine cyclique s'ouvre spontanément en céto-amine. Le produit désiré *exo*-**33**, de même stéréochimie que le produit naturel, garde sa fonction spiroimine intacte en condition aqueuse neutre.

⁹⁹ Johannes, J. W.; Wenglow, S.; Kishi, Y. *Org. Lett.* **2005**, 7, 3997-4000.

¹⁰⁰ Northrup, A. B.; MacMillan, D. W. C. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, 124, 2458-2460.

¹⁰¹ Dans les réactions de Diels-Alder avec des diénophiles de type acrylate, l'approche favorisée est généralement de type *endo* dues à des interactions secondaires avec le diène qui stabilisent l'état de transition.

¹⁰² Exemple pionnier de la réaction de Diels-Alder dans l'eau : Rideout, D. C.; Breslow, R. *J. Am. Chem. Soc.* **1980**, 102, 7816-7817.

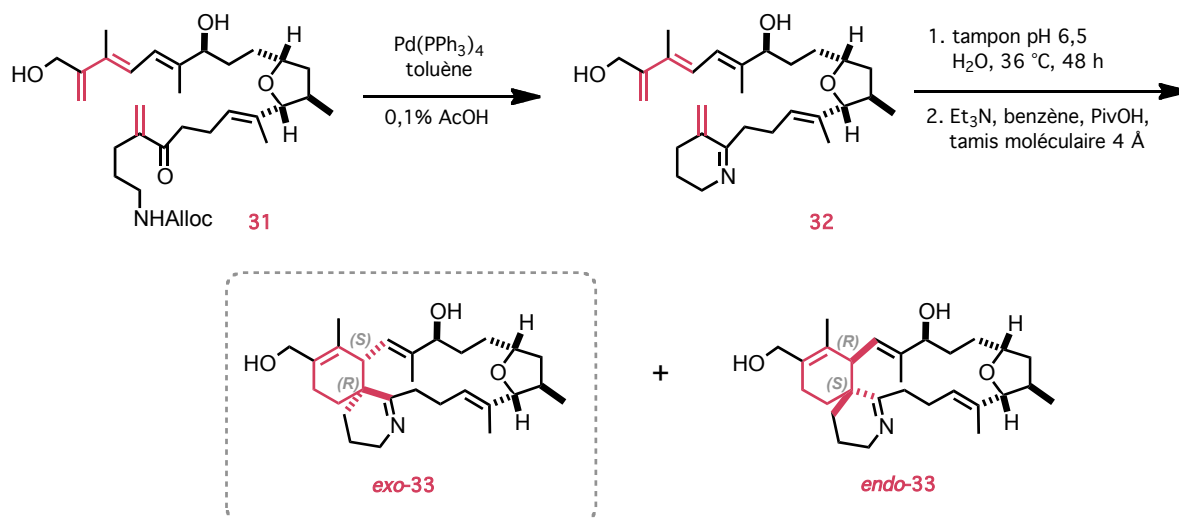


Schéma 6 : Macrocyclisation par réaction de Diels-Alder intramoléculaire selon Kishi

Bien que cette stratégie soit intéressante, la réaction de Diels-Alder intramoléculaire montre ses limites quant à la faible sélectivité observée dans cette synthèse. D'autres travaux ont été réalisés autour de la réaction de Diels-Alder, mais de manière intermoléculaire cette fois-ci.

II. 3. Approche énantiosélective de Murai *et al.*

L'approche de Murai *et al.* est basée sur une réaction d'Horner-Wadsworth-Emmons (HWE), réalisée dans les conditions de Masamune-Roush,¹⁰³ qui a permis d'associer les deux fragments **35** et **37**, obtenus à partir du pool chiral, pour synthétiser l'intermédiaire **38** (Schéma 7).

Après aménagements fonctionnels, le diène **39** a été engagé dans la réaction de Diels-Alder avec le lactame **40** comme diénophile.¹⁰⁴ Cette étape clé a été réalisée en présence d'un ligand chiral de type bis(sulfinyl)imidoamidines **41** associé à un acide de Lewis $\text{Cu}(\text{SbF}_6)_2$. Ce complexe chiral développé par Ellman *et al.*¹⁰⁵ permet de catalyser les réactions de Diels-Alder avec un niveau exceptionnel d'énantiosélectivité et de diastéréosélectivité.

¹⁰³ Blanchette, M. A.; Choy, W.; Davis, J. T.; Essinfeld, A. P.; Masamune, S.; Roush, W. R.; Sakai, T. *Tetrahedron Lett.* **1984**, 25, 2183-2186.

¹⁰⁴ Tsujimoto, T.; Ishihara, J.; Horie, M.; Murai, A. *Synlett* **2002**, 399-402.

¹⁰⁵ Owens, T. D.; Hollander, F. J.; Oliver, A. G.; Ellman, J. A. *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, 123, 1539-1540.

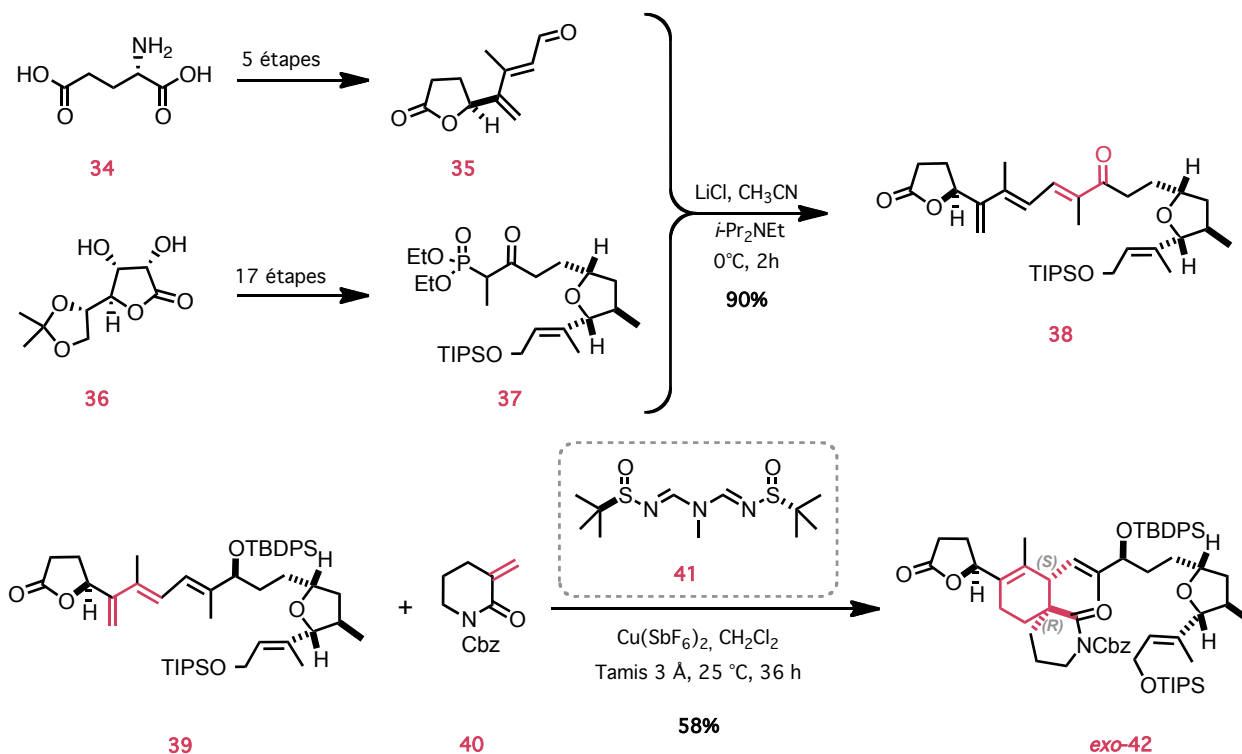


Schéma 7 : Réaction de HWE et de Diels-Alder selon Murai

Dans ces conditions optimisées, Murai *et al.* ont obtenus le cyclo-adduit **42** sous la forme d'un seul diastéréomère avec un rendement de 58 %. La conversion n'est pas totale (69 %) même à température ambiante, mais la présence d'une quantité stœchiométrique du ligand chiral et de l'acide de Lewis, a quand même permis une approche exclusivement *exo* avec de bonnes énantiosélectivités.

II. 4. Approche énantiosélective de White *et al.*

La stratégie de White *et al.* repose sur la synthèse des centres asymétriques du motif spiroimine par une réaction de Diels-Alder diastéréosélective.¹⁰⁶ Le diène **43**, dérivé du (*S*)-glycéraldéhyde, a été utilisé comme source de chiralité et mis en réaction avec le diénophile symétrique **44**, issu de l'acide de Meldrum, très réactif (Schéma 8).¹⁰⁷ Cette cycloaddition a lieu avec une totale régiosélectivité mais conduit à une très faible induction asymétrique du dioxolane chiral. Les cycloadduits **45** et **46** ont été obtenus avec un rendement global de 85 % mais avec une très faible sélectivité de 1,2:1 en faveur du cycloadduit désiré **45**.

¹⁰⁶ (a) White, J. D.; Wang, G. Q.; Quaranta, L. *Org. Lett.* **2003**, 5, 4983-4986. (b) White, J. D.; Quaranta, L.; Wang, G. Q. *J. Org. Chem.* **2007**, 72, 1717-1728.

¹⁰⁷ Meldrum, A. N. *J. Chem. Soc.*, **1908**, 93, 598-601.

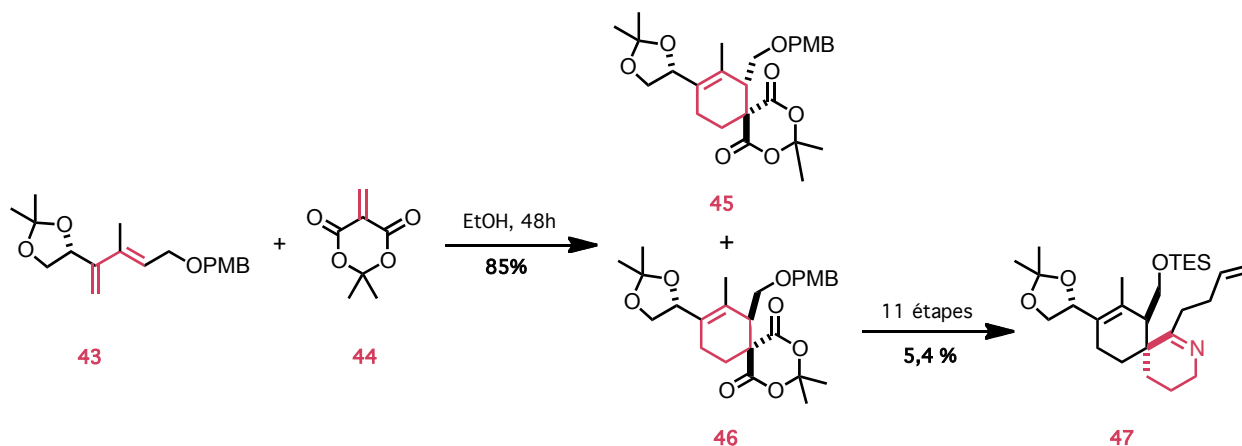


Schéma 8 : Réaction de Diels-Alder intermoléculaire avec un dérivé de l'acide de Meldrum

Face aux échecs rencontrés pour transformer le cycloadduit **45** en spiroimine, les auteurs ont décidé de travailler sur l'autre stéréomère et d'envisager plus tard dans la synthèse une correction du centre stéréogénique. Le cycloadduit **46** a alors pu être valorisé et transformé en une spiroimine non naturelle **47** en 11 étapes.

Le cycloadduit **45** a toutefois permis d'atteindre un intermédiaire de synthèse très avancé **48**, en 10 étapes (Schéma 9). Le fragment cyclohexène **48** a été mis en jeu dans un couplage de Suzuki-Miyaura avec l'iodoalcène **49**. Cette réaction a été conduite en présence de carbonate de césium, de triphénylarsine et d'une quantité catalytique de Pd(dppf)Cl_2 . L'utilisation de triphénylarsine (AsPh_3) comme additif dans cette étape, est essentiel puisque le rendement en produit de couplage **50** chute à 36 % s'il n'est pas présent. Les modifications fonctionnelles appliquées en C7 ont ensuite permis d'obtenir l'alcyne **51** avec un rendement de 30 % sur 4 étapes.

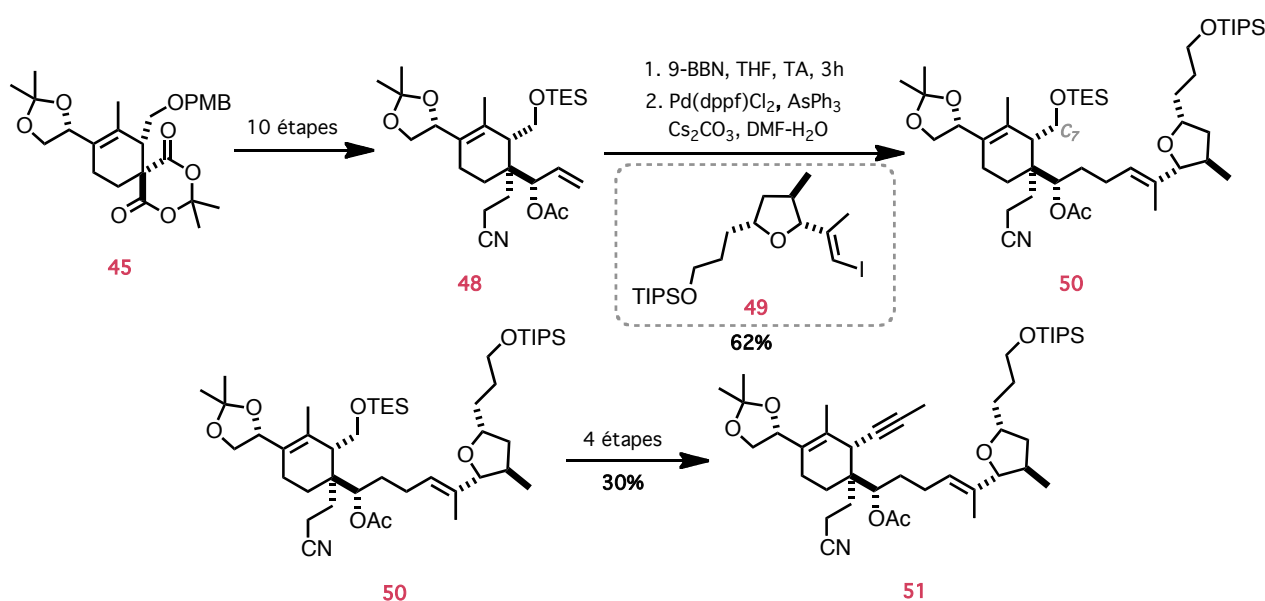


Schéma 9 : Réaction de Suzuki-Miyaura pour l'obtention d'un intermédiaire de synthèse avancé

Dans le but de réaliser la macrocyclisation finale par une réaction de Nozaki-Hiyama-Kishi, les auteurs ont voulu transformer la fonction alcyne en halogénure d'alcène. Malheureusement, toutes les stratégies envisagées n'ont pas permis de convertir le substrat de départ **51**, démontrant que l'alcyne se retrouve dans un environnement relativement encombré.

II. 5. Synthèse totale de la (-)-gymnodimine A par Romo *et al.*

La première synthèse totale de la (-)-gymnodimine **8a** a été réalisée par Romo en 2009.¹⁰⁸ L'analyse rétrosynthétique repose sur quatre réactions clés : une réaction de Nozaki-Hiyama-Kishi (NHK), une macrocyclisation de type Barbier, une réaction de Diels-Alder asymétrique et une réaction de Mukaiyama-aldol vinylogue pour introduire le motif buténolide (Schéma 10).

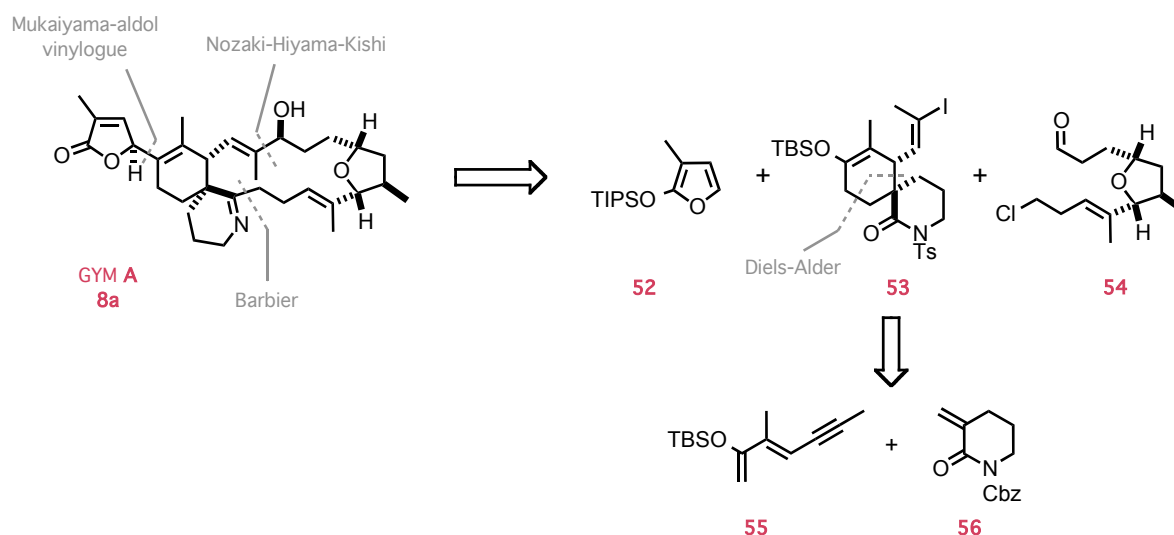


Schéma 10 : Rétrosynthèse de Romo *et al.*

Le groupe de Romo a développé trois méthodes de synthèses indépendantes pour le buténolide,¹⁰⁹ la spiroimine^{110,111} et le fragment tétrahydrofurane,¹¹² avant d'accomplir la synthèse totale après dix années de travaux. Nous ne discuterons ici que de la formation du motif cyclohexène **53** et de l'association des trois fragments principaux qui permet d'obtenir la GYM A **8a**.

¹⁰⁸ Kong, K.; Romo, D.; Lee, C. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2009**, *48*, 7402-7405.

¹⁰⁹ Kong, K.; Romo, D. *Org. Lett.* **2006**, *8*, 2909-2912.

¹¹⁰ Kong, K.; Moussa, Z.; Romo, D. *Org. Lett.* **2005**, *7*, 5127-5130.

¹¹¹ La même approche a été publiée par Brimble mais avec des résultats très modestes : Brimble, M. A.; Crimmins, D.; Trzoss, M. *Arkivoc* **2005**, 39-52.

¹¹² Yang, J. Y.; Cohn, S. T.; Romo, D. *Org. Lett.* **2000**, *2*, 763-766.

Pour commencer, la synthèse du motif cyclohexène **58** a été réalisée par une réaction de Diels-Alder asymétrique (Schéma 11). Les conditions développées par l'équipe d'Evans (complexe de cuivre-bis(oxazoline) **57** et d'hexafluoroantimonate d'argent) se sont révélées être les meilleures pour cette réaction.¹¹³ A partir du diène (*E*)-**55** et du lactame **56**, le cycloadduit **58** a été obtenu avec un excellent rendement de 85%, et de remarquables diastéréosélectivité et énantiosélectivité, montrant ainsi toute la puissance de cet outil synthétique.

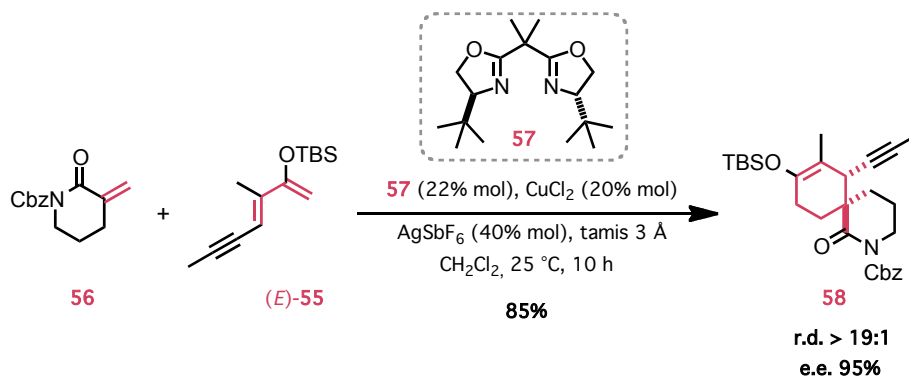


Schéma 11 : Réaction de Diels-Alder asymétrique dans les conditions d'Evans

Romo a proposé un état de transition afin de rationaliser l'induction asymétrique du ligand chiral (Figure 21). Comme l'a montré Evans, l'atome de cuivre se complexe à la fois aux deux atomes d'azote du ligand bis-oxazoline et aux deux atomes d'oxygène du diénophile **56**. L'approche du diène (*E*)-**55** se fait sur la face supérieure à cause de la gêne stérique engendrée par le groupe *tert*-butyl (boule grise) proche du diénophile sur la face inférieure. C'est donc l'encombrement du ligand chiral qui impose une approche *exo* et conduit au produit **58** désiré.

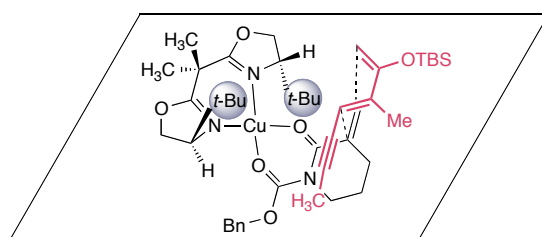


Figure 21 : Etat de transition favorisé pendant la réaction de Diels-Alder

La première stratégie pour assembler le macrocycle consistait à effectuer dans un premier temps une réaction de Barbier sur le composé **58** puis une macrocyclisation de type NHK. Malheureusement, la synthèse de l'iodure de vinyle à partir de l'alcyne, présent sur l'intermédiaire réactionnel, a échoué.

¹¹³ Evans, D. A.; Miller, S. J.; Lectka, T.; von Matt, P. *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 7559-7573.

Les auteurs ont donc d'abord effectué la jonction des deux fragments par un couplage de type NHK sur le composé **53** puis la macrocyclisation par une réaction de Barbier (Schéma 12). La fonctionnalisation de l'acétylène s'est avéré difficile, car seules les conditions d'hydrostannylation pallado-catalysée¹¹⁴ ont permis l'obtention du vinylstannane qui a pu être transformé en iodure de vinyl **53** après échange étain/iode. La réaction de NHK fourni un mélange 1,3:1 des alcools allyliques **59** sur le carbone C10, mais le mauvais épimère peut être converti en alcool **59** grâce à la séquence d'oxydation-réduction d'Itsunu-Corey (d.r. = 6:1).¹¹⁵ Après protection de l'alcool puis réaction de Finkelstein, l'iodure d'alkyle **60** est obtenu et les épimères en C13 séparés. La réaction de Barbier, conduite à température ambiante, a conduit au macrocycle **61** avec des rendements de 56 à 61 %.

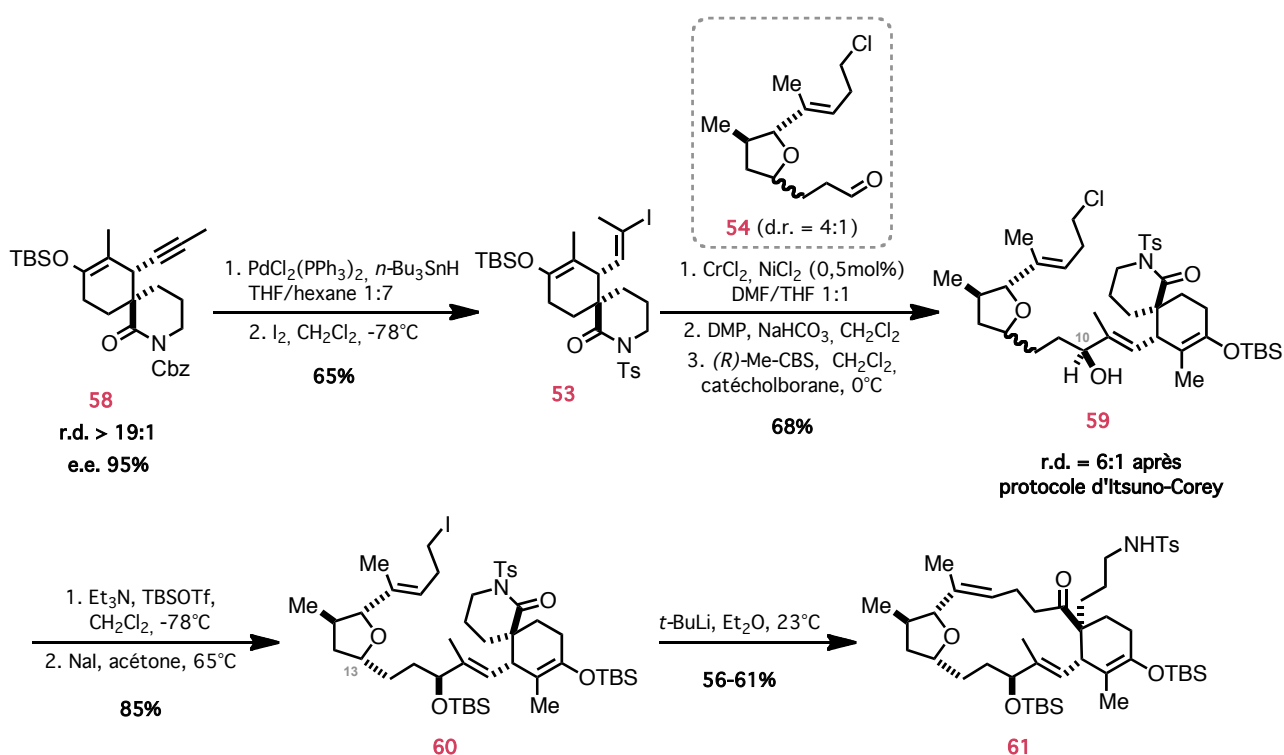


Schéma 12 : Formation du macrocycle par réaction de NHK puis réaction de Barbier

Après aménagements fonctionnels de la chaîne azotée, déprotection de l'alcool en C10 et hydrolyse de l'éther d'énol silylé, le produit **62** a été obtenu et engagé dans la réaction de Mukaiyama-aldol vinylogue.¹¹⁶ En présence de deux équivalents de TiCl_4 et du silyloxyfurane **52**, il a été possible d'obtenir le composé **63** sans aucune diastéréosélectivité pour le produit désiré. La GYM A **8a** a finalement été obtenue en cinq étapes à partir de **63** (Schéma 13).

¹¹⁴ (a) Zhang, H. X.; Guibé, F. Balavoine, G. *J. Org. Chem.* **1983**, *48*, 4155-4156. (b) Semmelhack, M. F. ; Hooley, R. J. *Tetrahedron Lett.* **2003**, *44*, 5737-5739.

¹¹⁵ Corey, E. J.; Helal, C. J. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1998**, *37*, 1986-2012.

¹¹⁶ Kong, K.; Romo, D. *Org. Lett.* **2006**, *8*, 2909-2912.

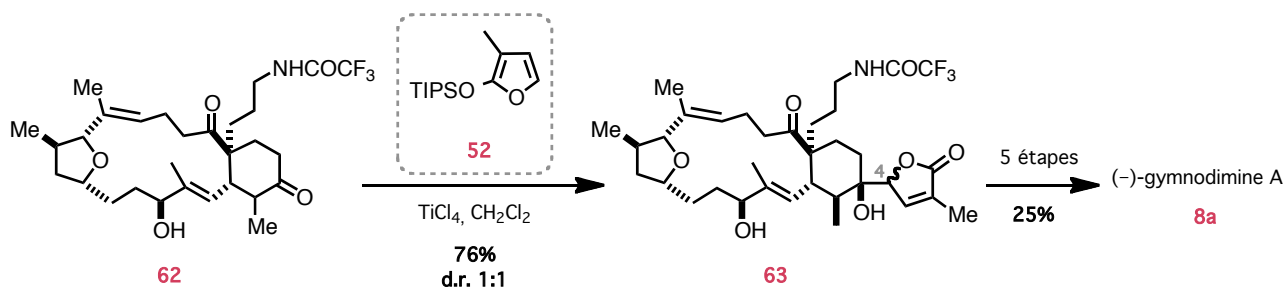


Schéma 13 : Réaction de Mukaiyama-aldol vinylogue et obtention de la GYM A

Au cours de ces travaux, Romo a montré que les imines spirocycliques présentaient une très grande stabilité. En effet, elles ne sont pas hydrolysées en conditions acides (HCl 6N/THF (1/1)) ou basiques (NaOH 3N/EtOH (1/1)). Le centre quaternaire adjacent doit jouer un rôle important sur la stabilité mais cela n'a pas été clairement prouvé.

III. Approches synthétiques des spirolides

III. 1. Approche énantiosélective de Zakarian *et al.*

Les récents travaux de Zakarian *et al.* sur la synthèse du centre quaternaire du fragment spiroimine des SPX¹¹⁷ s'appuient sur un réarrangement diastéréosélectif d'Ireland-Claisen suivi d'une réaction d'aldol intramoléculaire. La formation préalable d'un énolate de stéréochimie Z est essentielle pour un transfert de chiralité efficace au cours du réarrangement pour former les carbones quaternaire (C29) et tertiaire (C7) adjacents (Schéma 15).

Grâce à l'emploi de bases développées par le groupe de Koga,¹¹⁸ comme (R,R)-**65**, (S)-**66**, (S)-**67** ou d'autres bases chirales lithiées, les éthers d'énol silylés **68** et **69** peuvent être obtenus avec de très bons rapports Z/E (de 70/30 à 98/2) selon la nature des groupements R¹ et R² (Schéma 14).¹¹⁹

¹¹⁷ Stivala, C. E.; Zakarian, A. *Org. Lett.* **2009**, *11*, 839-842.

¹¹⁸ (a) Shirai, R.; Aoki, K.; Sato, D.; Kim, H. D.; Murakata, M.; Yasukata, T.; Koga, K. *Chem. Pharm. Bull.* **1994**, *42*, 690-693.

(b) Shirai, R.; Sato, D.; Aoki, K.; Tanaka, M.; Kawasaki, H.; Koga, K. *Tetrahedron* **1997**, *53*, 5963-5972.

¹¹⁹ Qin, Y.-C.; Stivala, C. E.; Zakarian, A. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46*, 7466-7469.

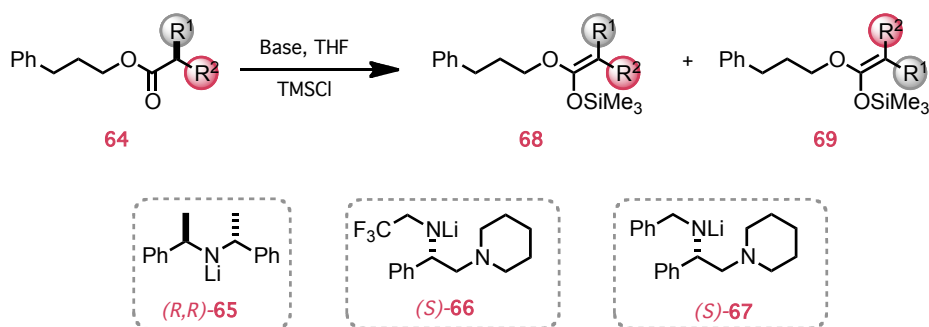


Schéma 14 : Méthode d'énolisation stéréosélective basée sur des bases chirales

Cette méthodologie a donc été appliquée sur l'ester **70** (Schéma 15). En effet, l'énolisation stéréosélective de l'ester α -branché **70** permet de favoriser l'état de transition **71** et d'obtenir l'acide **72**, issu du réarrangement, sous la forme d'un seul diastéréomère. Celui-ci a ensuite été directement estérifié par le (triméthylsilyl)-diazométhane pour donner l'ester méthylique **73** avec un excellent rendement de 96 % sur 2 étapes.

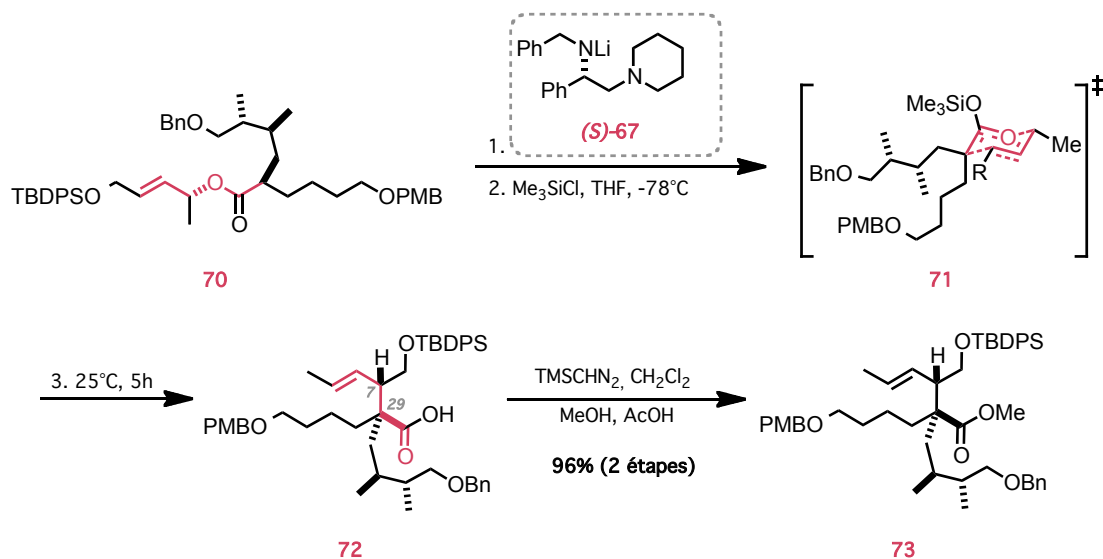


Schéma 15 : Application de la réaction d'Ireland-Claisen pour la synthèse de spirolide

La fermeture en cycle à six chaînons a été effectuée après quelques étapes d'aménagements fonctionnels qui ont permis l'obtention de **74** (Schéma 16). Une double oxydation du diol a été réalisée pour synthétiser le céto-aldéhyde. Puis la séquence d'aldolisation/crotonisation a été effectuée à partir de **74** en présence de trifluoacétate de dibenzylamine comme base dans le toluène à 60°C pendant 3 jours. L'aldéhyde α, β -insaturé **75** a été obtenu avec un rendement de 85 % sur 2 étapes.

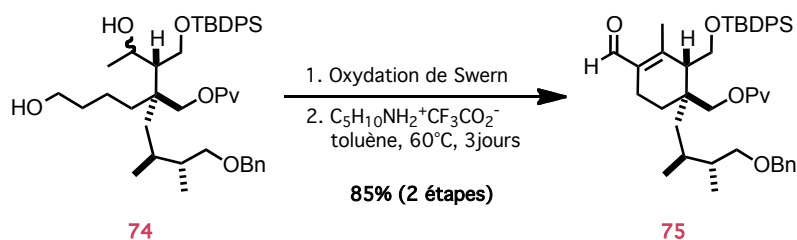


Schéma 16 : Réaction d'aldol intramoléculaire pour la synthèse du spirolide

III. 2. Approche énantiosélective de Brimble *et al.*

C'est au début de l'année 2009 que Brimble a publié ses travaux sur la réaction de Birch alkylante asymétrique pour la synthèse de lactames, précurseurs de spiroimines (Schéma 17).¹²⁰ Cette réduction de Birch de l'amide **76** avec différents électrophiles a mené aux dérivés chlorés **77** avec des rendements allant de 19 à 79 % et des excès diastéréomériques compris entre 51 à 94 %.

Après transformation de l'halogène en azoture, différentes conditions d'hydrogénation ont été explorées afin de réduire à la fois l'azoture et la double liaison trisubstituée de manière diastéréosélective. Les meilleures conditions ont été obtenues avec le catalyseur d'Adams¹²¹ (PtO_2) dans l'acide acétique sous une pression d'hydrogène de 8 bars. L'hydrolyse de l'auxiliaire chiral a nécessité des conditions très drastiques (HCl 6N dans l'eau au reflux pendant 16 h) et l'ammonium **80** intermédiairement formé a été engagé dans une réaction de couplage peptidique. Les lactames **81** ont été obtenus avec des rendements très modestes allant de 13 à 33 %.

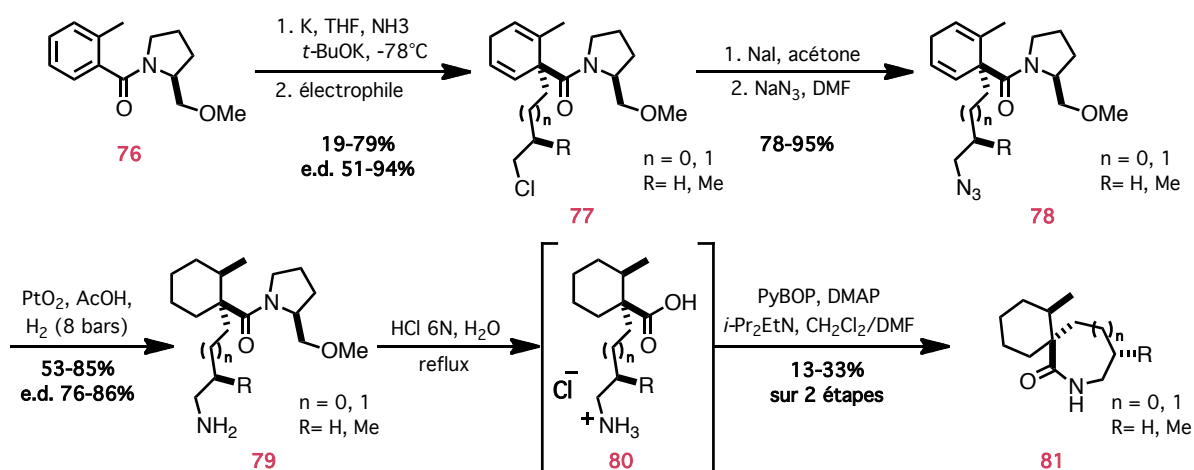


Schéma 17 : Synthèse de spirolactames par réaction de Birch alkylante asymétrique

¹²⁰ Guéret, S. M.; O'Connor, P. D.; Brimble, M. A. *Org. Lett.* **2009**, 11, 963-966.

¹²¹ Voorhees, V.; Adams, R. *J. Am. Chem. Soc.* **1922**, 44, 1397-1405.

Son équipe a également travaillé sur une approche de cycloaddition intermoléculaire de Diels-Alder mettant en jeu un diénophile trisubstitué chiral (synthétisé à partir du L-acide ascorbique) et un diène de Danishefsky pour créer de manière simultanée les centres stéréogènes C7 et C29.¹²²

Les premiers essais de cycloaddition ont été réalisés dans des conditions thermiques, mais seules des traces du cycloadduit **84** ont été obtenues. La réaction sans solvant assistée par des irradiations micro-ondes a permis d'isoler **84** avec un rendement de 65 % après un traitement acide pour hydrolyser l'éther d'énol (Schéma 18). Après 9 étapes, l'ester **84** est transformé en azido-cétone **85**, produit de départ de la réaction d'aza-Wittig finale. La première tentative de cyclisation en présence de triphénylphosphine dans du toluène à 70°C a malheureusement donné le produit réduit **86**. L'emploi de triméthylphosphine dans le toluène à température ambiante puis à reflux a permis d'obtenir la spiroimine **87** avec un rendement correct de 61 %.

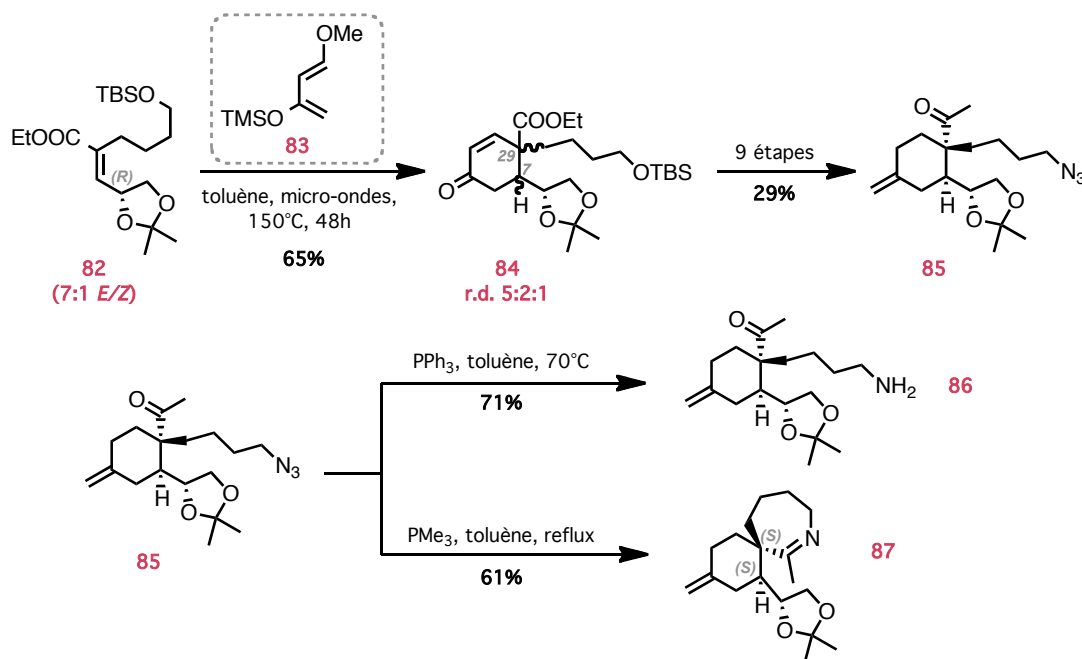


Schéma 18 : Cycloaddition de Diels-Alder et réaction d'Aza-Wittig

D'après les auteurs, la présence du centre quaternaire en α de l'imine et le cycle à 6 chaînons semblent être suffisants pour rendre la spiroimine **87** stable.

¹²² Guéret, S. M.; Furkert, D. P.; Brimble, M. A. *Org. Lett.* **2010**, *12*, 5226-5229.

IV. Approches synthétiques des pinnatoxines

IV. 1. Synthèses totales de Kishi *et al.*

Les premiers travaux concernant la synthèse énantiosélective de la PnTX A **15a** ont été réalisés par Kishi *et al.* en 1998.¹²³ Ils se sont inspirés de l'hypothèse biomimétique discutée en début de chapitre pour élaborer leur stratégie de synthèse. Ils ont donc réalisé la macrocyclisation par une réaction de Diels-Alder¹²⁴ intramoléculaire entre un diène et une cétone α,β -insaturée comme diénophile. Nous avons déjà parlé de cette méthodologie dans la partie consacrée aux gymnodimines, mais ceci n'est qu'une infime partie du travail impressionnant réalisé par son équipe. Cette approche ingénieuse a permis, en plus de la sythèse totale de la PnTX A **15a**, de réaliser les synthèses totales des PtTX A **16a**, PtTX B **16b** et PtTX C **16c**.¹²⁵

Dans le cas présent, il n'a pas été nécessaire ici de travailler avec la méthodologie de MacMillan, c'est pourquoi, une approche un peu différente a été envisagée. La réaction de Diels-Alder a été initiée par le DABCO¹²⁶ afin d'effectuer une réaction de type S_N2' sur le mésylate allylique **88** puis une réaction d'élimination en présence de triéthylamine pour passer par l'état de transition **89** (Schéma 19). Dans les conditions optimisées (concentration en substrat de 0,2 mM à une température de 70°C), les produits majoritaires obtenus sont les cycloadduits *exo*-**90** et *endo*-**90**, sous la forme d'un mélange *exo:endo* 5:1, sans aucune sélectivité faciale (1:1) pour le produit *exo* souhaité. Le rendement en produit désiré n'est que de 33 %, mais la faible différenciation faciale lors de l'approche *exo* n'est pas surprenante. Le contrôle de la stéréosélectivité reste un défi synthétique dans ce type de réaction car la sélectivité est très souvent dépendante du substrat.^{127,128}

¹²³ McCauley, J. A.; Nagasawa, K.; Lander, P. A.; Mischke, S. G.; Semones, M. A.; Kishi, Y. *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 7647-7648.

¹²⁴ Pour une revue sur la réaction de Diels-Alder comme réaction biosynthétique, voir : Stocking, E. M.; Williams, R. M. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2003**, *42*, 3078-3115.

¹²⁵ Matsuura, F.; Peters, R.; Anada, M.; Harried, S. S.; Hao, J.; Kishi, Y. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 7463-7465.

¹²⁶ (a) Hoffmann, H. M. R.; Rabe, J. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1983**, *22*, 795-796. (b) Jung, M. E.; Zimmerman, C. N. *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 7813-7814.

¹²⁷ Pour une revue sur la réaction de Diels-Alder intramoléculaire appliquée à la synthèse de produits naturels, voir : Juhl, M.; Tanner, D. *Chem. Soc. Rev.* **2009**, *38*, 2983-2992.

¹²⁸ Pour une revue sur l'utilisation de la réaction de Diels-Alder en synthèse totale, voir : Nicolaou, K. C.; Snyder, S. A.; Montagnon, T.; Vassilikogiannakis, G. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2002**, *41*, 1668-1698.

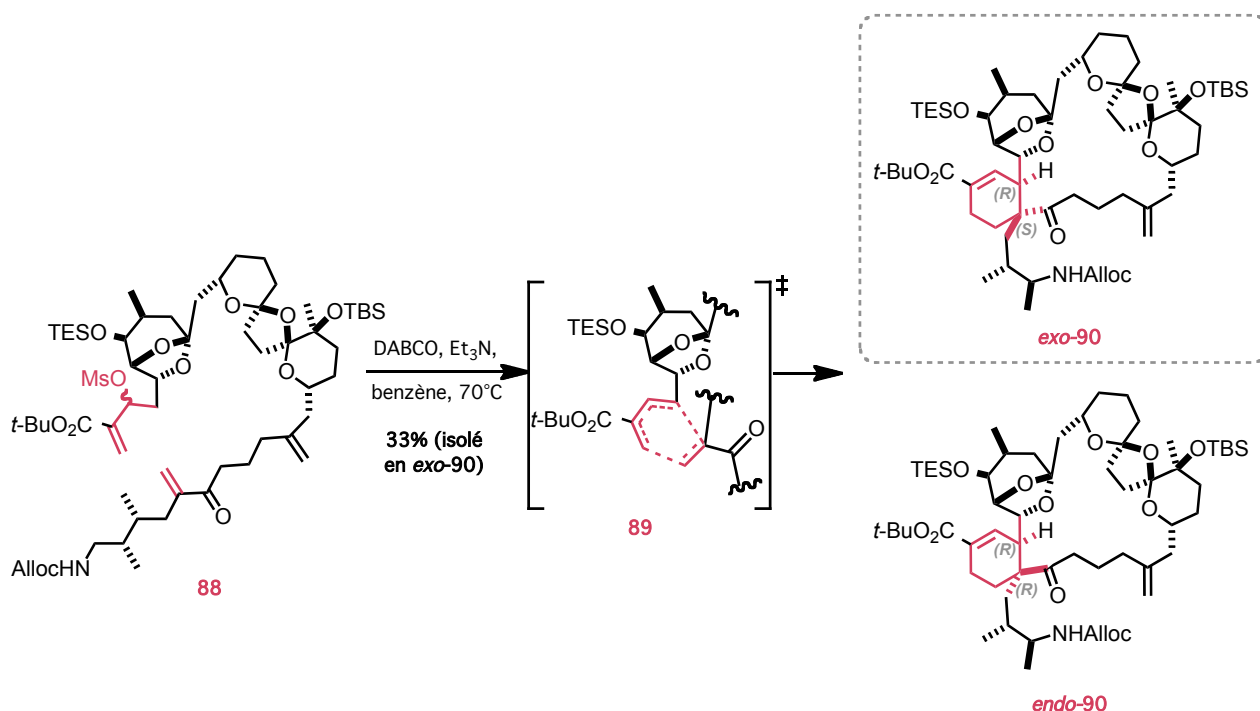


Schéma 19 : Réaction de Diels-Alder intramoléculaire appliquée à la synthèse de la PnTX A

Finalement, après quelques étapes de déprotections et formation de la spiroimine par cyclisation de l'amine sur la cétone, dans des conditions thermiques (chauffage à 200°C sous un vide de 1-2 Torr), la (-)-pinnatoxine A **15a** a été obtenue pour la première fois. Kishi *et al.* ont obtenu l'antipode du produit naturel ce qui leur a permis de confirmer la structure et de déterminer la configuration absolue de la molécule naturelle : la (+)-pinnatoxine A **15a**.

IV. 2. Approches de Zakarian *et al.*

IV. 2. 1. Par une cascade de réarrangements : Claisen et Mislow-Evans

Une alternative très intéressante concernant la synthèse du centre quaternaire du motif spiroimine a été développée par Zakarian *et al.* lors de leurs études sur la synthèse de la PnTX A **15a**.^{129,130} Leur approche est basée sur une élégante cascade de réarrangements sigmatropiques.

¹²⁹ (a) Pelc, M. J.; Zakarian, A. *Org. Lett.* **2005**, 7, 1629-1631. (b) Pelc, M. J.; Zakarian, A. *Tetrahedron Lett.* **2006**, 47, 7519-7523.

¹³⁰ Beaumont, S.; Ilardi, E. A.; Tappin, N. D. C.; Zakarian, A. *Eur. J. Org. Chem.* **2010**, 5743-5765.

Il s'agit d'une réaction tandem combinant un réarrangement de Claisen puis de Mislow-Evans.¹³¹ La réaction de Claisen est un réarrangement sigmatropique-[3,3]^{132,133} permettant l'obtention du composé γ , δ -insaturé **93**, tandis que la réaction de Mislow-Evans est un réarrangement sigmatropique-[2,3] (Schéma 20). Cette dernière réaction se fait en présence d'un phosphite qui permet de piéger le groupement sulfénate de l'intermédiaire **94**, ce qui conduit au produit **95** avec un excellent rendement de 91 % sur deux étapes. L'alcool allylique tertiaire **95** se trouve sous la forme d'un seul diastéréomère. Cette séquence réactionnelle peut également se faire sous irradiations micro-ondes (170°C, 50W) en seulement 20 min avec un rendement de 82 %.

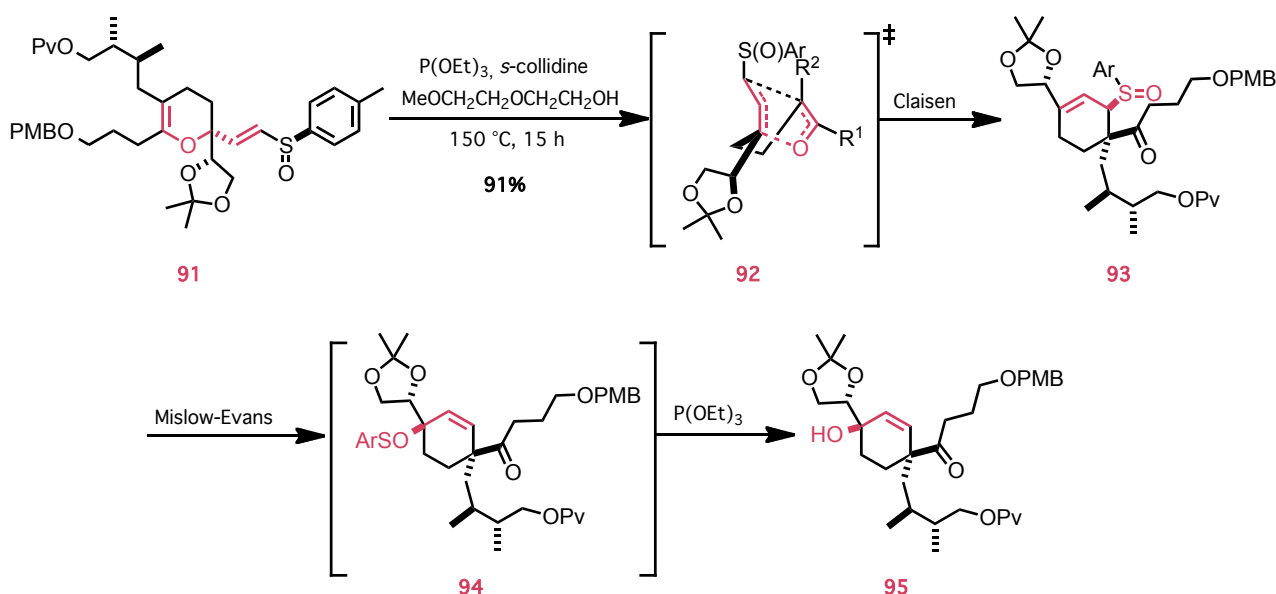


Schéma 20 : Cascade Claisen/Mislow-Evans pour la synthèse de la PnTX A

Après quatre transformations fonctionnelles, l'azoture **96** a été obtenu avec un rendement de 75%. Il a été ensuite engagé dans la réaction d'aza-Wittig en présence de triméthylphosphine dans du toluène à 110°C, mais cette cyclisation ne se produit qu'avec un rendement modeste de 51 %. D'après les auteurs, la spiroimine **97** synthétisée semble stable dans le toluène ou le chloroforme deutéré mais elle se décompose rapidement dans l'eau. Le carbone quaternaire et la présence des deux groupements méthyles vicinaux ne semblent pas suffisants pour lui assurer une bonne stabilité.

¹³¹ Pour une revue très intéressante sur les réarrangements sigmatropiques-[2,3], voir : Nakai, T.; Mikami, K. *Chem. Rev.* **1986**, *86*, 885-902.

¹³² Claisen, L. *Chem. Ber.* **1912**, *45*, 3157-3166.

¹³³ Pour une revue sur le réarrangement de Claisen et ses variantes, voir : (a) Castro, A. M. M. *Chem. Rev.* **2004**, *104*, 2939-3002. (b) Ilardi, E. A.; Stivala, C. E.; Zakarian, A. *Chem. Soc. Rev.* **2009**, *38*, 3133-3148.

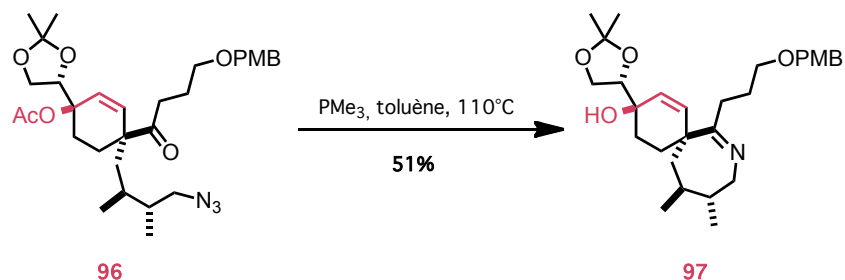
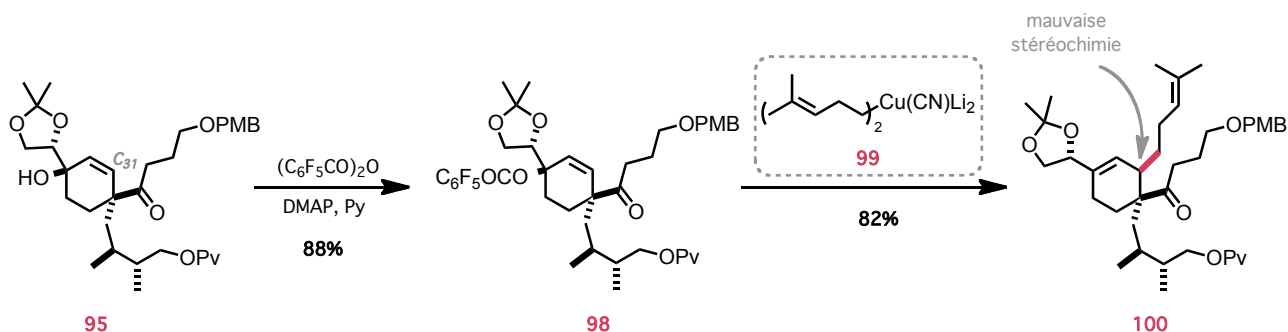


Schéma 21 : Cyclisation par une réaction d'aza-Wittig

Zakarian *et al.* ont alors souhaité fonctionnaliser l'alcool **95**, pour introduire la chaîne requise en position C31. Après de nombreuses tentatives, il a été découvert que la substitution par des cuprates pouvait être prometteuse.^{134,135} Quand le pentafluorobenzoate **98** a été traité avec le cuprate **99**, le produit **100** a été obtenu sous forme d'un seul régio- et diastéréoisomère. Malheureusement, les analyses NOE ont montré qu'il ne possédait pas la stéréochimie souhaitée (Schéma 22).^{130,136}

Schéma 22 : Fonctionnalisation en C31 par réaction de SN_2'

Cette observation n'est pas en accord avec les travaux de Corey selon lesquels les cuprates s'additionnent en *anti* via un mécanisme de type SN_2' ,¹³⁷ mais aucune explication n'a été donnée. Plusieurs facteurs pourraient expliquer ce résultat, comme la présence du centre quaternaire chiral adjacent qui pourrait entraîner des gênes stériques avec la chaîne alkyle. Une approche dirigée par la fonction carbonyle n'est pas non plus à exclure.

¹³⁴ Lipshutz, B. H.; Wilhelm, R. S.; Kozlowski, J. A. *Tetrahedron* **1984**, *40*, 5005-5038.

¹³⁵ Pour une revue sur l'utilisation des cuprates, voir : Lipshutz, B. H. *Synthesis* **1987**, 325-341.

¹³⁶ Résultats non publiés par Pelc, M. *Université de l'état de Floride*, **2005**.

¹³⁷ Corey, E. J.; Boaz, N. W. *Tetrahedron Lett.* **1984**, *25*, 3063-3066.

IV. 2. 2. Par le réarrangement d'Ireland-Claisen

La deuxième stratégie envisagée par Zakarian *et al.*, reprise dans cette partie, présente une forte homologie avec le travail réalisé sur la synthèse des spirolides. Pour rappel, cette stratégie s'appuie sur un réarrangement d'Ireland-Claisen d'un ester α -branché suivi d'une condensation cycloaldolique pour réaliser la fermeture du cycle.

Cette séquence réactionnelle a été mise à profit de façon avantageuse au cours de la synthèse totale de la PnTX A **15a**.^{130,138,139} Après une synthèse préalable du fragment **101**, l'éther d'énol silylé (*Z*), précurseur du réarrangement sigmatropique-[3,3], a été obtenu en présence de (*S*)-**66**. Le composé **102** est alors obtenu avec un très bon rendement de 94 % (Schéma 23).

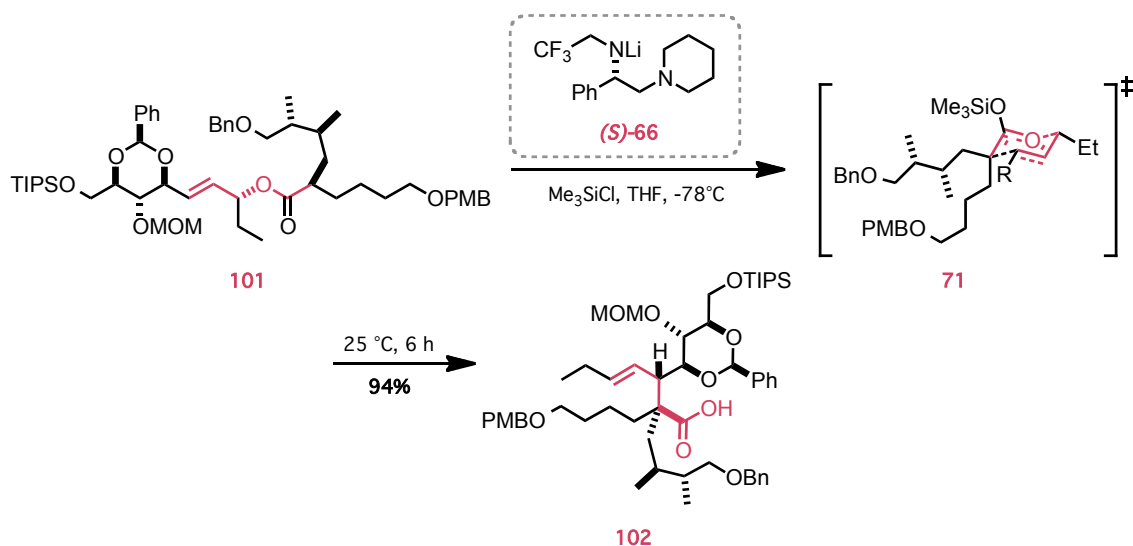


Schéma 23 : Réarrangement d'Ireland-Claisen pour la synthèse de la PnTX A

La fermeture du cycle à six chaînons de type cyclohexène a été effectuée dans les mêmes conditions que pour les spirolides (Schéma 24).

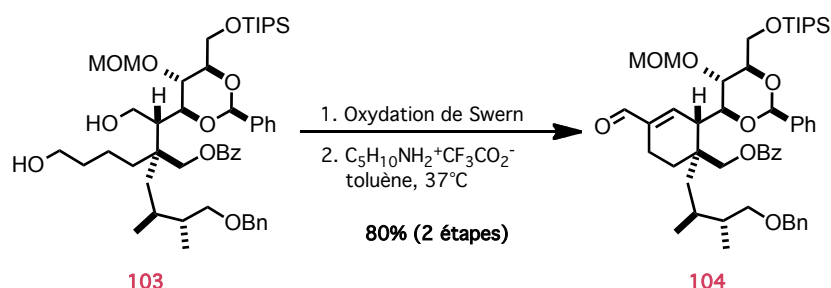


Schéma 24 : Fermeture du cycle par condensation aldolique pour la synthèse de la PnTX A

¹³⁸ Stivala, C. E.; Zakarian, A. *Tetrahedron Lett.* **2007**, 48, 6845-6848.

¹³⁹ Stivala, C. E.; Zakarian A. *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, 130, 3774-3776.

IV. 3. Synthèse totale de Nakamura *et al.*

Nakamura *et al.* ont réalisé en 2008, la synthèse totale de la PnTX A **15a**¹⁴⁰ en basant leur étude sur deux étapes clés. La première est une réaction de Diels-Alder intermoléculaire, avec une lactone α -méthylénique comme partenaire diénophile, et la seconde est une réaction très élégante de macrocyclisation par un couplage d'ényne dans des conditions développées par le groupe de Trost.^{141,142}

La sélectivité *exo* étant capitale lors de la réaction de Diels-Alder, Nakamura s'est basé sur les travaux du groupe de Roush¹⁴³ concernant les sélectivités observées lors de cycloadditions-[4+2] sur certains substrats. Roush a montré que lorsque les diénophiles de type énonnes avaient une conformation contrainte *s-cis*, les cycloadduits obtenus majoritairement étaient issus d'un état de transition de type *exo*. Partant de cette observation, Nakamura a choisi une α -méthylène lactone **106** comme diénophile. Après avoir effectué la synthèse du fragment polyacétalique **105**, la réaction de Diels-Alder a été réalisée en tube scellé dans des conditions thermiques (Schéma 25).

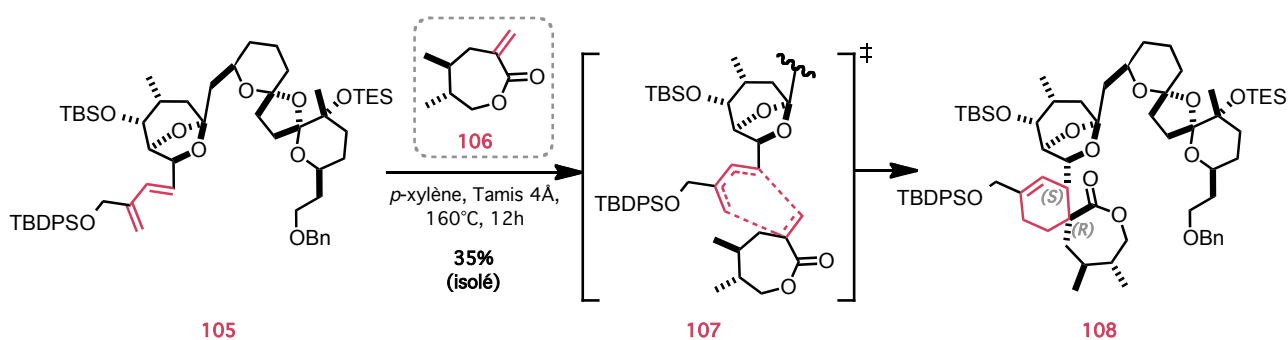


Schéma 25 : Réaction de Diels-Alder intermoléculaire avec une lactone α -méthylénique

Lors de cette réaction, quatre stéréomères ont été obtenus (sur les huit possibles) avec un rendement total de 83 %. Cependant, une modeste sélectivité en faveur des produits *exo* a été observée (72:28) ainsi qu'une faible sélectivité faciale (63:37). Après purification, la lactone **108** a été obtenue avec un rendement de 35 %.

Après différents aménagements fonctionnels, la macrocyclisation a été effectuée par un couplage d'ényne catalysé par un complexe de ruthénium **110** (Schéma 26).

¹⁴⁰ Nakamura, S.; Kikitchi, F.; Hashimoto, S. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2008**, 47, 7091-7094.

¹⁴¹ Trost, B. M.; Toste, F. D. *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, 121, 9728-9729.

¹⁴² Pour un exemple de macrocyclisation par couplage d'énynes, voir : Trost, B. M.; Harrington, P. E. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, 126, 5028-5029.

¹⁴³ (a) Roush, W. R.; Brown, B. B. *J. Org. Chem.* **1992**, 57, 3380-3387. (b) Qi, J.; Roush, W. R. *Org. Lett.* **2006**, 8, 2795-2798.

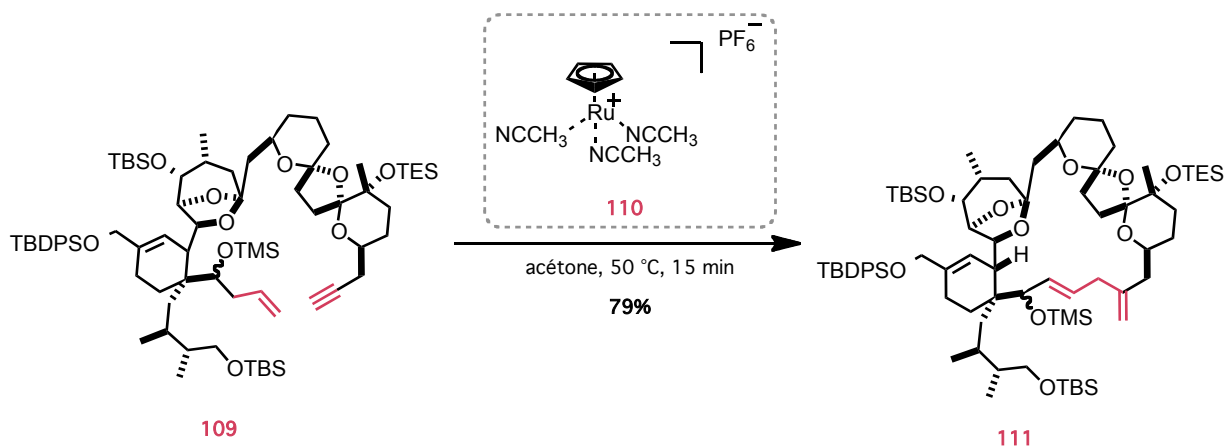


Schéma 26 : Macrocyclisation réalisée par un couplage d'énynes

Le diène-1,4 **111** a été obtenu à partir du composé **109** dans des conditions très douces avec un excellent rendement de 79%. Aucune trace de diène-1,3 isomérisé ou de dimérisation n'a été observée.

IV. 4. Synthèse formelle de Hirama *et al.*

Hirama *et al.* ont proposé une élégante réaction d'alkylation intramoléculaire diastéréosélective pour la création du centre quaternaire de la PnTX A **15a**.¹⁴⁴ Elle permet la création en une seule étape des deux centres asymétriques du motif cyclohexène. Grâce à leurs précédentes études,¹⁴⁵ ce groupe de recherche a pu effectuer une synthèse formelle très convergente, la fin de la synthèse étant la même que celle de Kishi.¹²³

Après avoir préparé le synthon **112**, une cyclisation de type 6-*exo*-tet de l'anion en α du nitrile, sur l'époxyde généré *in situ* en milieu basique (excès de $\text{KN}(\text{TMS})_2$), a permis de former le produit désiré **114** avec un très bon rendement de 72 % (Schéma 27).

¹⁴⁴ Sakamoto, S.; Sakazaki, H.; Hagiwara, K.; Kamada, K.; Ishii, K.; Noda, T.; Inoue, M.; Hirama, M. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, 43, 6505-6510.

¹⁴⁵ (a) Nitta, A.; Ishiwata, A.; Noda, T.; Hirama, M. *Synlett* **1999**, 695-696. (b) Wang, J.; Sakamoto, S.; Kamada, K.; Nitta, A.; Noda, T.; Oguri, H.; Hirama, M. *Synlett* **2003**, 891-893.

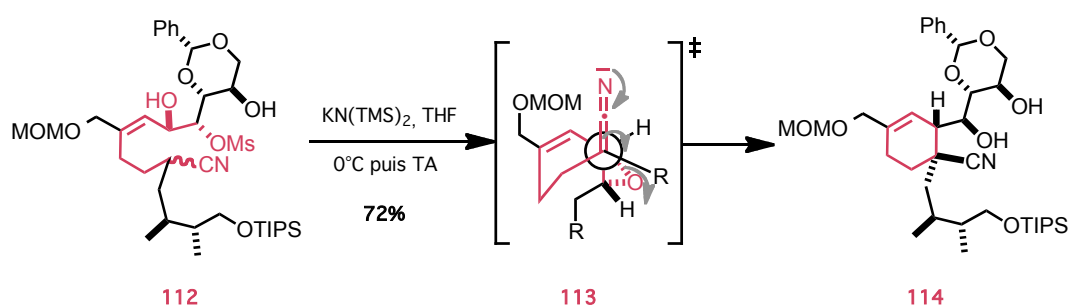


Schéma 27 : Ouverture anionique intramoléculaire d'un époxyde et formation du motif cyclohexène

La diastéréosélectivité observée lors de la création des centres quaternaire et tertiaire adjacents peut être rationalisée par l'approche dans l'espace **113**, représentée sur le Schéma 27. En effet, l'attaque de l'anion se fait toujours en *anti* par rapport à l'époxyde en accord avec les effets stéréoelectroniques.¹⁴⁵

Ensuite, la spiroimine a été obtenue dans des conditions classiques par fonctionnalisation de la fonction nitrile en alkylcétone puis transformation de la fonction alcool en azoture. Finalement une réaction de Staudinger en présence de triméthylphosphine a conduit à l'imine cyclique.¹⁴⁶

IV. 5. Approche énantiosélective d'Evans *et al.*

Très récemment, des réactions de Diels-Alder hautement diastéréosélectives ont été publiées par l'équipe de Evans.¹⁴⁷ Elles mettent en jeu un diénophile cyclique comportant un iminium α , β -insaturé, dont le contre-ion joue un rôle prépondérant dans la cinétique de la réaction. En effet, avec un contre-ion tel que SbF_6^- et ClO_4^- , la réaction ne dure que 15-17h alors qu'elle peut durer 4 jours avec TsO^- . D'autre part, les diastéréosélectivités *endo* restent bonnes que ce soit avec l'acétonitrile, le méthanol ou l'isopropanol.

Après la synthèse des iminiums **115** et **118**, les cycloadditions ont été menées dans l'acétonitrile à température ambiante avec le diène **116** comme partenaire (Schéma 28). Avec le diénophile **115**, le spiroiminium **117** a été isolé avec un très bon rendement et une nette préférence pour une cyclisation *endo*. Cette méthodologie a même pu être élargie au bicyclic-6,6 comme **119**.

¹⁴⁶ Staudinger, H.; Meyer, J. *Helv. Chim. Acta* **1919**, 2, 635-646.

¹⁴⁷ Marcoux, D.; Bindenschädler, P.; Speed, A. W. H.; Chiu, A.; Pero, J. E.; Borg, G. A.; Evans, D. A. *Org. Lett.* **2011**, DOI: 10.1021/ol201448h.

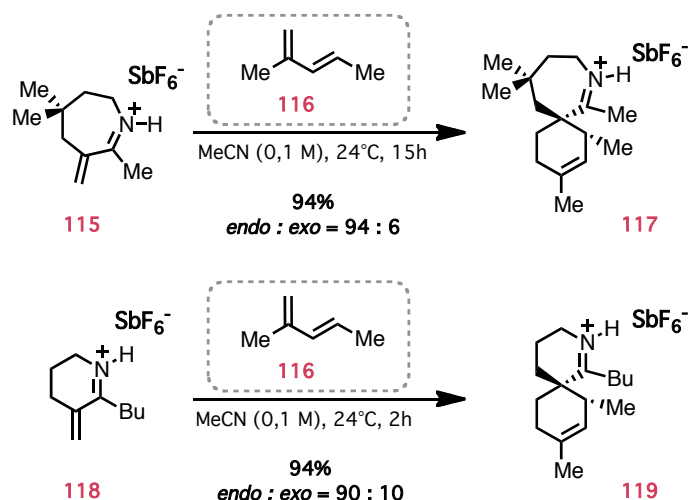


Schéma 28 : Cyclisation de Diels-Alder selon Evans

V. Résultats antérieurs du laboratoire et objectif du projet

Nous avons vu que différentes méthodes ont été employées pour la création du centre quaternaire des molécules de la famille des spiroimines. Celles-ci ont permis de réaliser trois synthèses totales des PtTXs, deux synthèses totales des PnTXs et une de la GYM A **8a**.

L'hypothèse biomimétique repose sur une réaction de Diels-Alder pour créer le motif cyclohexène de la spiroimine. Cette stratégie a été largement utilisée par les chercheurs. Nous avons pu discuté de la version intramoléculaire de Kishi ou encore des versions intermoléculaires des équipes de Murai, Nakamura, Romo, White et Brimble. L'utilisation de ligands chiraux lors de la synthèse totale de la (-)-gymnodimine **8a** par Romo¹¹⁰ a d'ailleurs donné de remarquables résultats.

Des approches plus originales ont également vu le jour. Les réarrangements sigmatropiques de type Claisen, développés par Zakarian, se sont révélés d'une grande efficacité pour la synthèse des spiroïdes et des pinnatoxines et l'utilisation intelligente des effets stéréoelectroniques lors des additions nucléophiles a permis à Hiram *et al.* de développer une élégante méthode pour la création des deux centres asymétriques contigus.

Malgré tous ces travaux de synthèse, aucune équipe de recherche n'a réalisé une étude de relation structure-activité des différentes molécules synthétisées. En accord avec les différentes données de la littérature, l'élément structural qui semble déterminer l'activité biologique de ces phycotoxines est le motif spiroimine. Excepté pour le cas du spiroïde H **14a**, ce motif est présent dans toutes les molécules biologiquement actives de la famille des gymnodimines, spiroïdes, pinnatoxines et ptériatoxines. Son rôle est donc à étudier car il semble être un pharmacophore extrêmement important.

Nous avons donc entrepris un programme de recherche sur la synthèse de la (-)-gymnodimine A **8a**. L'objectif est de développer une voie de synthèse courte et convergente et de tester l'activité biologique des différents fragments pour déterminer le ou les pharmacophores. Quelques travaux ont déjà été réalisés aux laboratoires et les pages qui suivent se proposent de résumer les approches envisagées et les méthodologies déjà développées.

V. 1. Analyse rétrosynthétique globale

Dans le cadre de la synthèse et de l'étude biologique de la GYM A **8a**, le laboratoire a choisi des disconnections permettant de fournir trois fragments simplifiés : le noyau spiroimine **122**, le motif tétrahydrofurane **121** ainsi que le buténolide **123** (Schéma 29). Cette stratégie de synthèse se veut la plus convergente possible afin de faciliter l'accès, dans le futur, aux divers analogues nécessaires aux études de pharmaco-modulation.

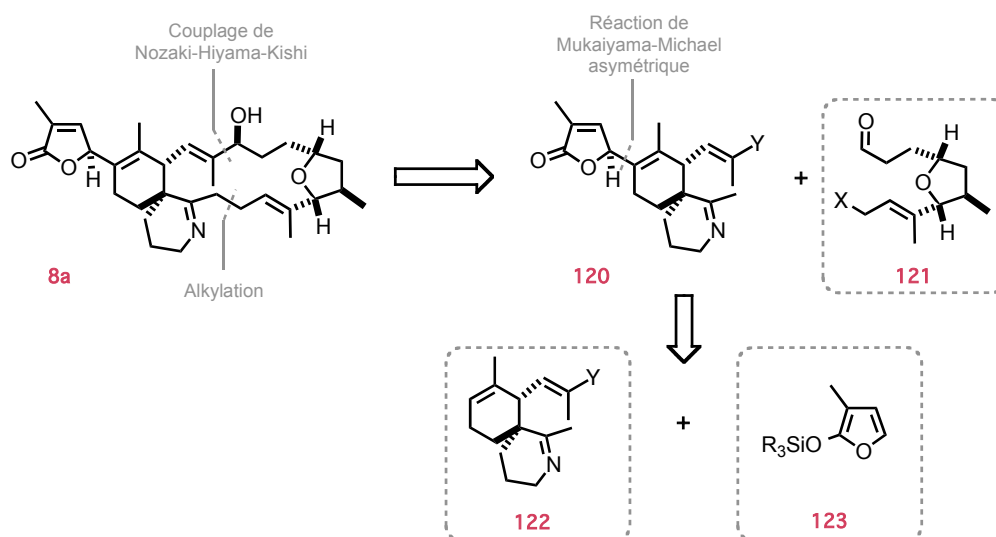


Schéma 29 : Analyse rétrosynthétique de la GYM A

L'assemblage de la spiroimine **122** et du buténolide **123** devrait être réalisé par une réaction de Mukaiyama-Michael vinylogue alors que le tétrahydrofurane **121** sera lié au fragment **120** par un couplage de Nozaki-Hiyama-Kishi, au niveau de l'alcool allylique, et par une réaction d'alkylation du côté de l'imine.

Au cours de cette collaboration, le fragment **121** a été confié à l'équipe de Pr. Y. Landais alors que la synthèse du fragment **122** et son association avec le motif **123** ont fait l'objet de nombreuses recherches dans le laboratoire du Dr. C. Guillou.

L'évaluation de l'activité biologique de chaque fragment clé sur différents types de récepteurs nicotiniques est envisagé afin de déterminer leurs activités pharmacologiques potentielles (collaboration avec J. Molgó du Laboratoire de Neurobiologie Cellulaire et Moléculaire à Gif-Sur-Yvette).

V. 2. Synthèse de motifs spiroimines

La création d'un centre quaternaire asymétrique reste encore de nos jours un véritable challenge pour le chimiste de synthèse. Pour former le centre quaternaire du motif spiroimine **122**, la première stratégie du laboratoire était basée sur une réaction de Birch alkylante asymétrique. En utilisant l'arsenal de la chimie aromatique, il était alors possible d'accéder à des molécules cycliques à 6 chaînons hautement fonctionnalisées en un minimum d'étapes.

Les essais préliminaires, réalisés par le Dr. Thierry Jousseau et le Dr. Laurent Chabaud, ont été effectués en version racémique et ont permis d'isoler en 14 étapes la spiroimine **130** (Schéma 30). La réaction de Birch a été réalisée en présence d'un métal, ici le potassium, dissout dans de l'ammoniac liquide et un co-solvant comme le THF. En présence d'une source protique tel que le *t*-BuOH, le cycle aromatique **124** est réduit et l'anion intermédiaire piégé avec un réactif alkylant. Dans le cas présent, le composé réduit **125** a été obtenu avec un rendement de 61 % puis engagé dans une étape de protection pour obtenir l'acétal **126**. Après quelques aménagements fonctionnels, la méthylcétone **129** obtenue a été engagée dans une réaction de Staudinger pour fournir le tricycle **130** avec un excellent rendement de 83 %.

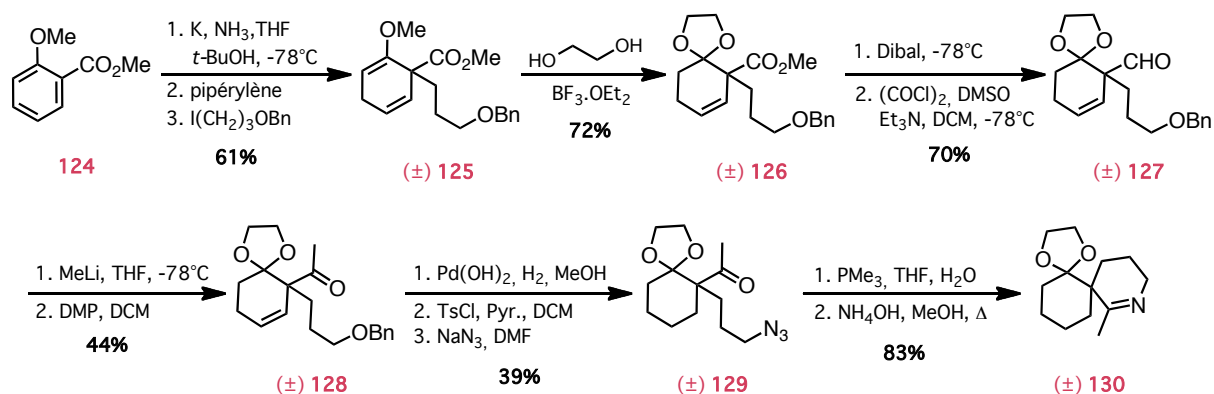


Schéma 30 : Voie d'accès à une spiroimine racémique par une réaction de Birch alkylante

Il est à noter que cette même spiroimine **130** peut être synthétisée en seulement 3 étapes par alkylation de dicétone-1,2, avec un rendement global de 22 % (Schéma 31).

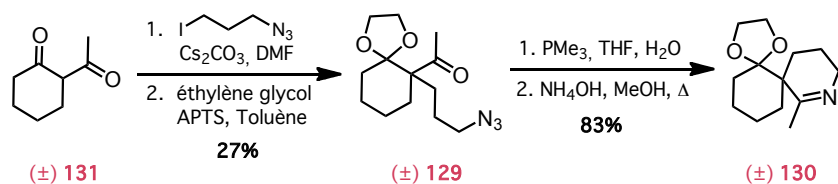


Schéma 31 : Synthèse de spiroimine racémique par alkylation de dicétone-1,2

L'atout majeur de la réaction de Birch alkylante est son fort potentiel en version asymétrique. La présence d'un acide carboxylique sur l'aromatique peut servir de point d'ancrage pour l'introduction d'un auxiliaire chiral qui permet de guider l'approche de l'électrophile. Au cours de sa thèse, le Dr. Thierry Jousseume a travaillé sur cette stratégie en utilisant des auxiliaires dérivés du L-prolinol **133**, comme la benzoxazépinone **135** ou le O-méthoxyprolinol **136** (Schéma 32).¹⁴⁸

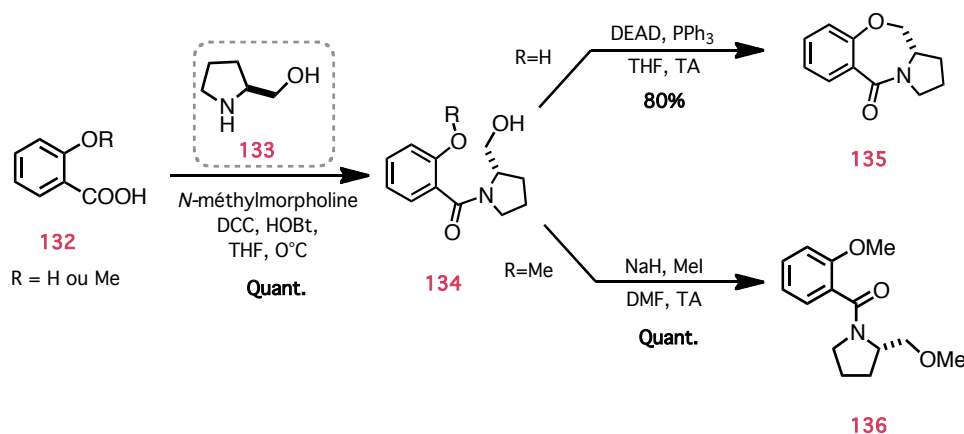


Schéma 32 : Principaux auxiliaires chiraux

Grâce à la benzoxazépinone **135**, obtenue en 3 étapes à partir de l'acide 2-fluorobenzoïque **137** commercial, la réaction de Birch alkylante asymétrique a conduit au composé **138** avec un bon rendement de 85 % et un bon excès diastéréoisomérique de 88 %. Trois étapes ont été nécessaires pour éliminer la copule chirale et former l'ester méthylique **139** (Schéma 33).

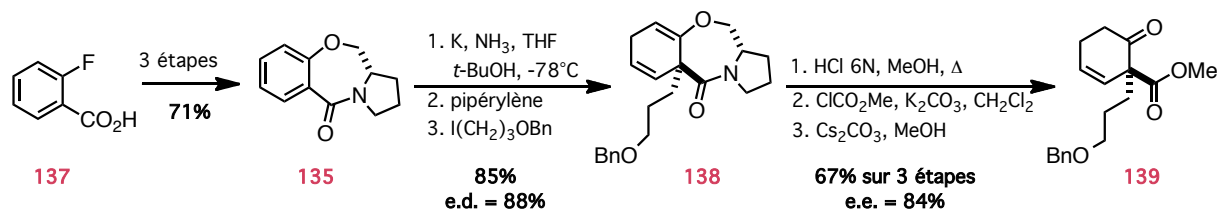


Schéma 33 : Réaction de Birch alkylante asymétrique

¹⁴⁸ (a) Schultz, A. G.; Sundararaman, P. *Tetrahedron Lett.* **1984**, 25, 4591-4594. (b) Schultz, A. G.; Sundararaman, P.; Macielag, M.; Lavieri, F. P.; Welch, M. *Tetrahedron Lett.* **1985**, 26, 4575-4578.

Le même composé **139** peut être obtenu en 2 étapes par voie racémique. Cette facilité d'accès a permis de développer une voie de synthèse viable au motif spiroimine **150** (Schéma 34). L'hydrogénation sélective de la double liaison du composé **139**, en présence du catalyseur de Crabtree **140** conduit à la cétone **141**, dont le groupement benzyle a été oxydé en benzoate **143** grâce au réactif de Collins **142**. Une réaction de deshydrogénation dans les conditions de Saegusa-Larock puis une réduction dans les conditions de Luche ont conduit à l'alcool allylique **145**. La saponification des deux fonctions esters puis la réaction de lactonisation avec les sels de Mukaiyama ont permis la synthèse de la spirolactone **146**. La protection de l'alcool tertiaire, l'ouverture de la lactone puis la transformation de l'alcool primaire en azoture ont conduit à la méthylcétone **149**. Celle-ci peut être engagée dans la réaction de Staudinger finale pour obtenir la spiroimine **150**. Il aura fallu 12 étapes, avec un rendement global de 7 %, pour parvenir au but.

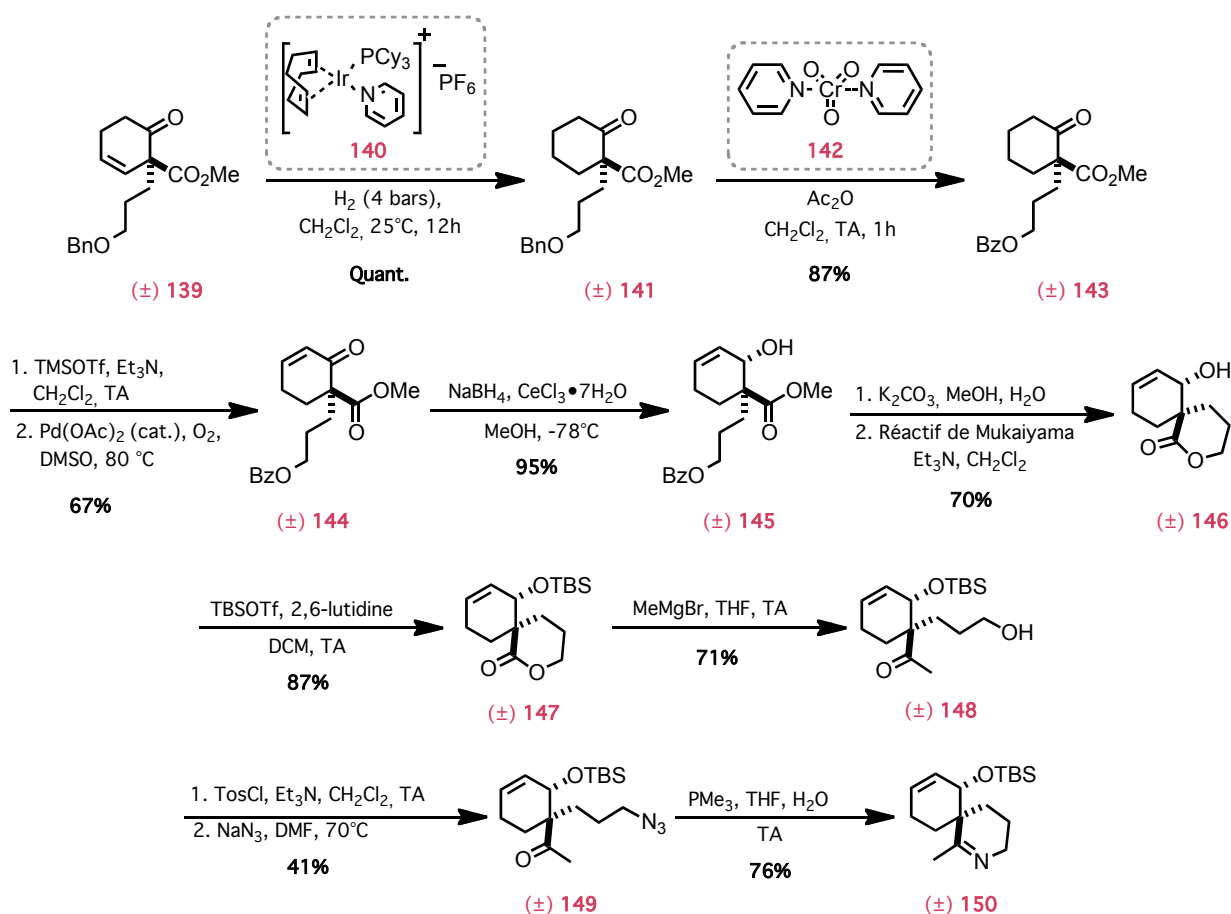


Schéma 34 : Accès au motif spiroimine en version racémique

V. 3. Synthèse du fragment tétrahydrofuranne

Comme nous l'avons déjà dit, la synthèse du coeur tétrahydrofurane de la GYM A **8a** a été confiée à l'équipe de Y. Landais à Bordeaux. Ils sont parvenus à créer ce motif d'intérêt, en seulement neuf étapes, à partir de l'alcool **151** issu du pool chiral.¹⁴⁹

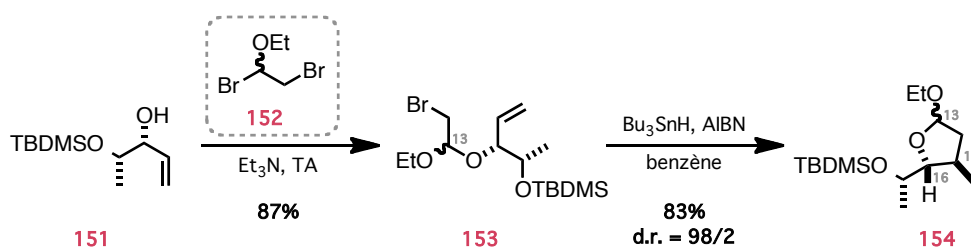


Schéma 35 : Mise à profit de la réaction d'Ueno-Stork pour la synthèse du motif tétrahydrofurane

L'utilisation d'un excès de 1,2-dibromo-1-éthoxyéthane **152**, fraîchement préparé, a permis la synthèse de l'halo-éther **153**. Celui-ci a été isolé sous la forme d'un mélange inséparable de deux diastéréoisomères qui a été engagé dans la réaction radicalaire d'Ueno-Stork. En présence de tributylstannane et d'AIBN, le furane **154** a été obtenu avec un rendement de 83% (Schéma 35).

La stéréochimie est rationalisée par le passage par un état de transition de type pseudo-chaîse (**155** ou **156**) sur lequel le groupement alkoxy se situe en position axiale et la chaîne en C16 en position pseudo-équatoriale. Ce modèle a été développé par Beckwith¹⁵⁰ puis affiné par Renaud et Schiesser¹⁵¹ et explique l'obtention du mélange 1:1 des deux diastéréoisomères en C13 (Figure 22).

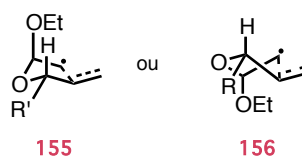


Figure 22 : Etats de transition

¹⁴⁹ Toumieux, S.; Beniazza, R.; Desvergnès, V.; Aráoz, R.; Molgó, Landais, Y. J. *Org. Biomol. Chem.* **2011**, 9, 3726-3732

¹⁵⁰ (a) Beckwith, A. L. J.; Schiesser, C. H. *Tetrahedron Lett.* **1985**, 26, 373-376.

¹⁵¹ (a) Villar, F.; Kolly-Kovac, T.; Equey, O.; Renaud, P. *Chem.-Eur. J.* **2003**, 9, 1566-1577. (b) Corminboeuf, O.; Renaud, P.; Schiesser, C. H. *Chem. Eur. J.* **2003**, 9, 1578-1584.

La fonctionnalisation de la position 13 a été réalisée, après déprotection du groupement TBDMS, en mettant l'alcool **157** en réaction avec l'allyltriméthylsilane en présence de TMSOTf comme acide de Lewis. Ceci a permis l'obtention de l'allyl **158** avec un bon rendement et un bon stéréocontrôle en faveur du produit *cis* désiré. Une suite d'aménagements fonctionnels a finalement permis d'atteindre le motif furanique **162**, essentiel à la synthèse de notre cible (Schéma 36). Les tests de compétition avec l' α -BTX sur les nAChRs de torpilles n'ont pas montré d'activité biologique de cette partie de la GYM A **8a**.

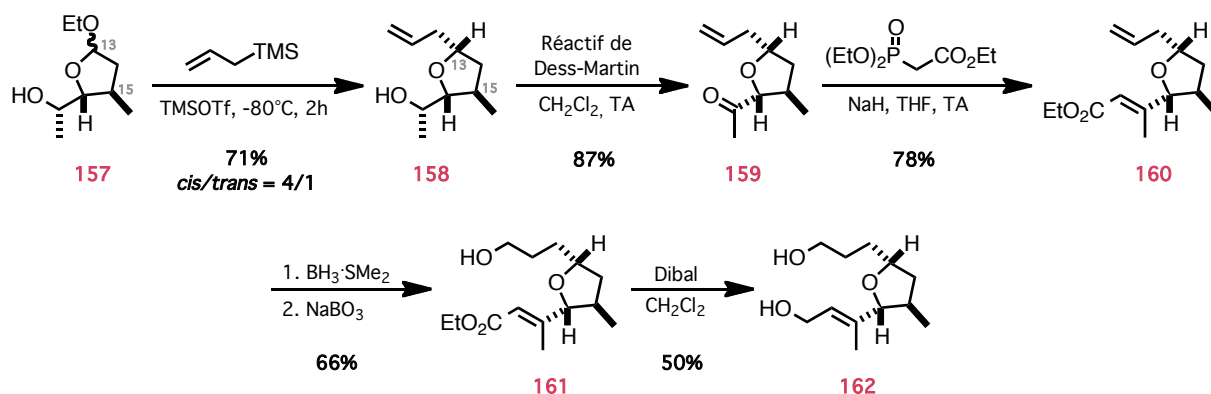


Schéma 36 : Accès au fragment tétrahydrofurane de la GYM A

V. 4. Études sur la réaction de Mukaiyama-Michael vinylogue

Il a été imaginé au laboratoire que l'introduction du motif buténolide sur le fragment cyclohexénone de la GYM A **8a** pourrait se faire *via* une réaction de Mukaiyama-Michael vinylogue (Schéma 37). Ce type de réaction permet d'accéder à des composés 1,7-dicarbonylés par l'addition d'un éther d'énol silylé **163** sur un accepteur de Michael, de type cétone α , β -insaturé **164** dans le cas présent. En présence d'une quantité catalytique de SnCl_4 , les adduits **165** ont pu être obtenus avec d'excellents rendements (jusqu'à 97%) et de bonnes diastéréosélectivités (jusqu'à 92/8).¹⁵²

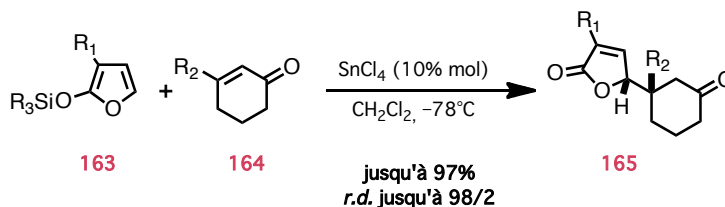


Schéma 37 : Développement de la réaction de Mukaiyama-Michael vinylogue

¹⁵² Chabaud L; Jousseau, T.; Retailleau, P.; Guillou, C *Eur. J. Org. Chem.* **2010**, 28, 5471-5481.

Grâce à l'analyse des rayons-X de certains buténolides, il a pu être montré que l'isomère majoritaire avait une configuration relative *thréo*. Il est aussi important de préciser qu'à ce jour, la régénération du motif énone sur **165**, nécessaire pour une approche de synthèse totale, n'a jamais pu être réalisée.

V. 5. Objectifs personnels

L'enjeu du travail effectué au cours de ce doctorat, s'articule autour de la synthèse du motif spiroimine **122**. Pour la synthèse de ce fragment, nous avons déjà vu que la réaction de Birch alkylante asymétrique donnait de bons rendements et de bons excès énantiomériques. Toutefois, l'introduction puis l'élimination de la copule chirale conduit à des synthèses relativement longues. En effet, la synthèse de la spiroimine racémique **150** a été réalisée en 12 étapes, avec un rendement global de 7 %. De plus, il faudrait encore au moins 4 étapes supplémentaires pour l'obtenir de manière énantiosélective.

Cette voie ne pouvant être envisagée pour un accès rapide à des spiroimines énantiomériquement pures, une seconde approche a été étudiée au laboratoire. Nous nous sommes intéressés à des méthodes catalytiques basées sur des alkylations allyliques asymétriques. Pour créer rapidement le centre quaternaire de la spiroimine, deux voies ont été explorées en parallèle. La première s'appuie sur une réaction de Tsuji-Trost sur un cétoester **170** tandis que la seconde s'intéresse aux alkylations décarboxylantes asymétriques sur des substrats tels que **173** ou **174** (Schéma 38).

Par la voie A, la spiroimine **166** pourrait être obtenue à partir d'une réaction d'Aza-Wittig entre une cétone et une fonction azoture. L'intermédiaire **167** pourrait être synthétisé après ouverture d'une lactone **168**, qui elle-même aurait été formée par réaction entre un ester éthylique et une fonction alcool générée après la fonctionnalisation d'une chaîne allyl. Le substrat allylique **169** aurait été généré grâce à une réaction de Tsuji-Trost sur le céto-ester **170**.

Par la voie B, la spiroimine **166** serait créée suite à une réaction de cycloaddition-[3+2]/élimination de N₂ entre une fonction azoture et une oléfine. Le substrat **171** pourrait être obtenu après isomérisation de la chaîne allyl de la molécule **172**. Les alkylations décarboxylantes asymétriques peuvent être envisagées sur des intermédiaires de type céto-ester **173** ou sur des carbonates **174**, tous les deux générés à partir de cyclohexénones **175**.

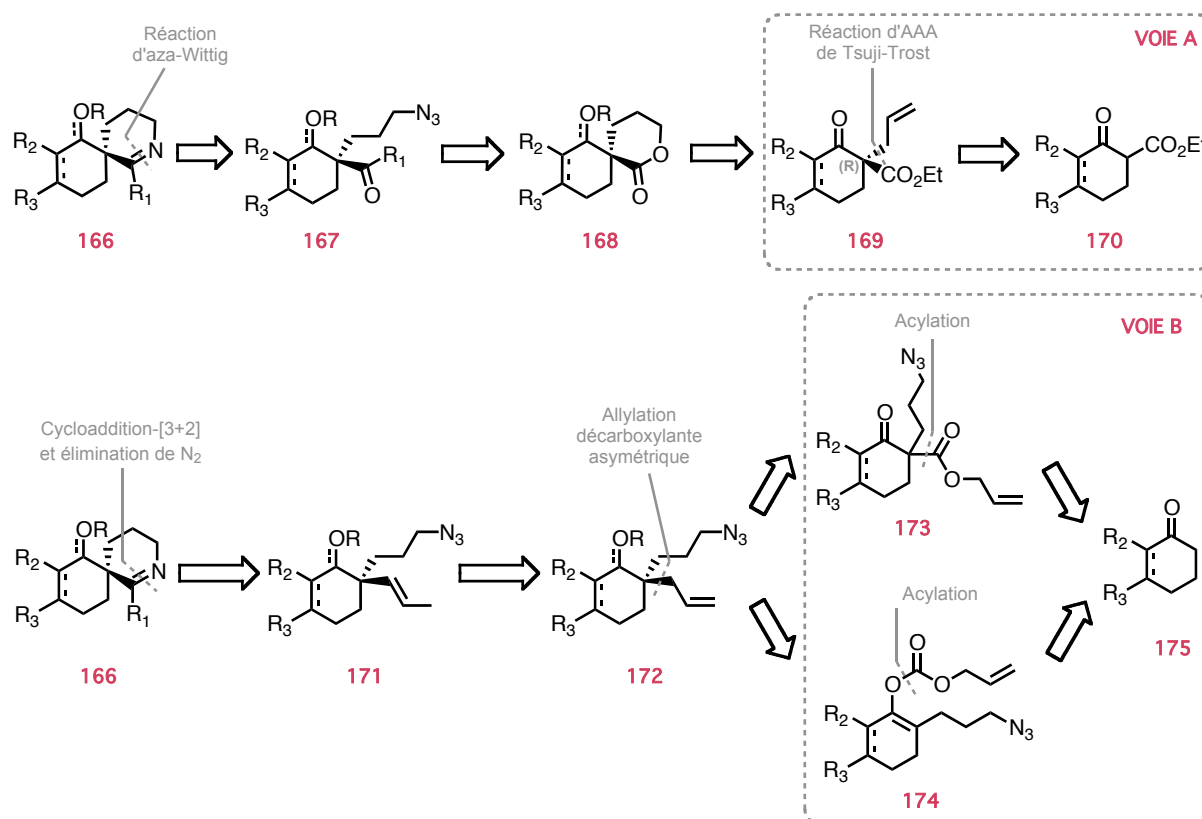


Schéma 38 : Analyses rétrosynthétiques envisagées

Chacune de ces approches fera l'objet d'un chapitre à part entière dans ce mémoire. Dans un premier temps, des rappels bibliographiques sur les étapes clés vous seront présentés puis, dans un second temps, une présentation détaillée des résultats expérimentaux obtenus sera discutée. Enfin, le dernier chapitre traitera de l'évaluation biologique des spiroimines que nous avons synthétisées par ces deux approches.

Chapitre 3 : Création du centre
quaternaire du motif spiroimine par
réaction de Tsuji-Trost

Chapitre 3 : Création du centre quaternaire du motif spiroimine par réaction de Tsuji-Trost

I. Rappels bibliographiques

I. 1. Historique de la réaction et principaux avantages

Les métaux de transition permettent la catalyse d'un grand nombre de réactions organiques avec d'excellentes chimio- et stéréosélectivité. Le palladium, notamment, trouve son utilité dans beaucoup de procédés chimiques importants, comme dans les réactions de couplage où il permet la création de liaisons C-C. Dans les réactions d'alkylations allyliques asymétriques (AAA), le palladium se montre extrêmement puissant puisqu'il permet l'élaboration de liaisons variées : C-C, C-O, C-S, C-N et C-H. De plus, si l'on considère que ce procédé est tolérant d'un très grand nombre de groupes fonctionnels et qu'il a lieu dans des conditions réactionnelles douces, le potentiel de ces réactions est évident.

En 1965, Tsuji a montré que certains nucléophiles, tels que des énamines ou des anions dérivés de diéthylmalonate ou d'éthylacétoacétate, avaient la capacité de réagir avec les complexes de π -allyl palladium.¹⁵³ Après les premiers rapports sur les réactions d'alkylations allyliques stœchiométriques dans les années 1970,¹⁵⁴ d'intenses efforts ont été mis en oeuvre pour élaborer des processus catalytiques.¹⁵⁵ En 1973, il a été démontré que cette réaction pouvait se faire avec une totale régio- et stéréosélectivité avec des nucléophiles mous.¹⁵⁶ Par la suite, une définition a alors été associée à la réaction de Tsuji-Trost. C'est une réaction d'allylation pallado-catalysée, d'un carbone nucléophile sur un composé allylique **176**, *via* un complexe π -allylpalladium **177** (Schéma 39).^{157,158} Toutefois, il faudra encore une vingtaine d'années pour voir apparaître des systèmes catalytiques véritablement efficaces.

Cette réaction a longtemps souffert de son inconvénient principal : l'utilisation quasi exclusive de nucléophiles mous. Il faudra attendre 1999, pour que la chimie des énolates soit associée à la réaction de Tsuji-Trost et que la première AAA, avec nucléophiles durs, soit reportée par Trost et Schroeder.¹⁵⁹

¹⁵³ Tsuji, J.; Takahashi, H.; Morikawa, M. *Tetrahedron Lett.* **1965**, 49, 4387-4388.

¹⁵⁴ Trost, B. M.; Dietsche, T. J. *J. Am. Chem. Soc.* **1973**, 8200-8201.

¹⁵⁵ (a) Atkins, K. E.; Walker, W. E.; Malyik, R. M. *Tetrahedron Lett.* **1970**, 3821-3824. (b) Trost, B. M.; Strege, P. E. *J. Am. Chem. Soc.* **1976**, 1649-1651. (c) Trost, B. M.; Crawley, M. L. *Chem. Rev.* **2003**, 103, 2921-2943.

¹⁵⁶ Trost, B. M.; Fullerton, J. F. *J. Am. Chem. Soc.* **1972**, 292-294.

¹⁵⁷ Trost, B. M. *Pure Appl. Chem.* **1981**, 53, 2357-2370.

¹⁵⁸ Tsuji, J. *Pure Appl. Chem.* **1982**, 54, 197-206.

¹⁵⁹ Trost, B. M.; Schroeder, G. M. *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, 6759-6760.

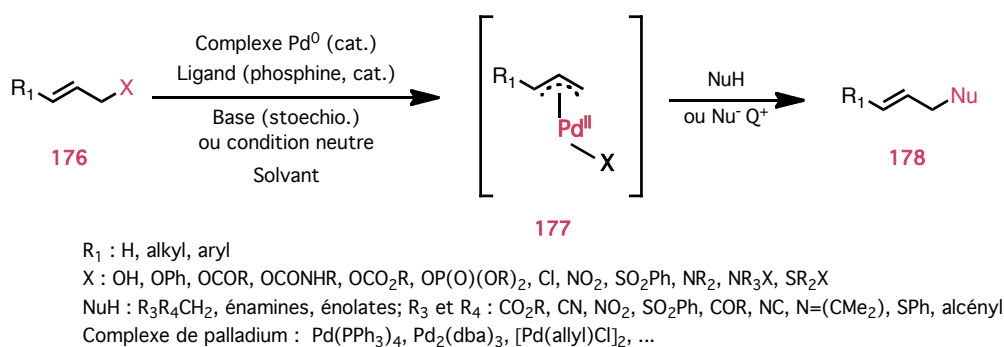


Schéma 39 : Réaction générale de l'allylation de Tsuji-Trost

Si l'on observe la gamme de substrats utilisables, cette réaction offre de grandes possibilités. Pour la formation du complexe π -allylpalladium, l'acétate d'allyl est employé dans la plupart des cas. Cependant, beaucoup d'autres fonctions peuvent aussi être utilisées en tant que groupements partants : les halogénures,¹⁶⁰ les sulfones,¹⁶¹ les carbonates,¹⁶² les carbamates, les époxydes,¹⁶³ les phosphates,...¹⁶⁴ La grande différence de réactivité de ces groupements (Cl \gg OCO₂R > OAc \gg OH) peut être un atout considérable pour contrôler la régiosélectivité de la réaction.

De leur côtés les nucléophiles sont tout aussi variés. Bien que les plus communément employés soient les nucléophiles mous tels que les malonates, des conditions réactionnelles aménagées ont permis de travailler avec des nucléophiles azotés,¹⁶⁵ oxygénés,¹⁶⁶ soufrés,¹⁶⁷ phosphorés,¹⁶⁸ silylés,¹⁶⁹ des vinylboronates,¹⁷⁰ des hydrures,¹⁷¹ ou encore des composés organométalliques.¹⁷²

¹⁶⁰ Sheffy, F. K.; Stille, M. J. *J. Am. Chem. Soc.* **1983**, *105*, 7173-7175.

¹⁶¹ Trost, B. M.; Schmuff, N. R.; Miller, M. J. *J. Am. Chem. Soc.* **1980**, *102*, 5979-5981.

¹⁶² Tsuji, J.; Shimizu, I.; Minami, I.; Ohashi, K.; Sugiura, T. *J. Org. Chem.* **1985**, *50*, 1523-1529.

¹⁶³ Tsuji, J. *Tetrahedron* **1986**, *42*, 4361-4401.

¹⁶⁴ Tanigawa, Y.; Nishimura, K.; Kawasaki, A.; Murahashi, S. *Tetrahedron Lett.* **1982**, *23*, 5549-5552.

¹⁶⁵ (a) Murahashi, S.; Tanigawa, Y.; Imada, Y.; Taniguchi, Y. *Tetrahedron Lett.* **1986**, *27*, 227-230. (b) Tanikaga, R.; Jun, T. X.; Kaji, A. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. I* **1990**, 1185-1191.

¹⁶⁶ (a) Tsuji, J.; Sakai, H.; Nagashima, H.; Shimizu, I. *Tetrahedron Lett.* **1981**, *22*, 131-134. (b) Larock, R. C.; Harrison, L. W.; Hsu, M. H. *J. Org. Chem.* **1984**, *49*, 3662-3664.

¹⁶⁷ Julia, M.; Nei, M.; Saussime, L. *J. Organomet. Chem.* **1979**, *181*, C17-C20.

¹⁶⁸ Akermarck, B.; Nystrom, J. E.; Rein, T.; Bäckvall, J. E.; Helquist, P.; Aslanian, R. *Tetrahedron Lett.* **1984**, *25*, 5719-5722.

¹⁶⁹ Trost, B. M.; Yashida, J.; Lautens, M. *J. Am. Chem. Soc.* **1983**, *105*, 4494-4496.

¹⁷⁰ Miyaura, N.; Yano, T.; Suzuki, A. *Tetrahedron Lett.* **1980**, *21*, 2865-2868.

¹⁷¹ Tsuji, J.; Minami, I.; Shimizu, I. *Synthesis* **1986**, 623-627.

¹⁷² (a) Zhu, L.; Wehmeyer, R. M.; Rieke, R. D. *J. Org. Chem.* **1991**, *56*, 1445-1453. (b) Hayashi, T.; Konishi, M.; Yokota, K.; Kumada, M. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1981**, 313-314. (c) Temple, J. S.; Schwartz, J. *J. Am. Chem. Soc.* **1980**, *102*, 7381-7382. (d) Temple, J. S.; Riediker, M.; Schwartz, J. *J. Am. Chem. Soc.* **1982**, *104*, 1310-1315. (e) Trost, B. M.; Keinan, E. *Tetrahedron Lett.* **1980**, *21*, 2595-2598.

I. 2. Considérations mécanistiques

D'un point de vue mécanistique, l'espèce catalytique active est une source de Pd^0 **179**, introduite directement, ou générée *in situ* grâce à la réduction d'un complexe de Pd^{II} (Schéma 40). Pour commencer, le complexe de Pd^0 **179** se coordine à l'alcène **176** pour obtenir l'intermédiaire **180**, puis un processus d'addition oxydante (ou ionisation) a lieu pour donner le π -allyl **181**. Par la suite, en présence de ligand, un équilibre s'installe entre la forme neutre **181** et la forme cationique **182** du complexe. L'attaque du nucléophile se produit alors sur l'une des extrémités du complexe π -allyl et conduit à la formation du complexe de Pd^0 **183**. La dissociation du Pd^0 permet finalement de libérer le produit **178** et de régénérer l'espèce active **179**.¹⁷³

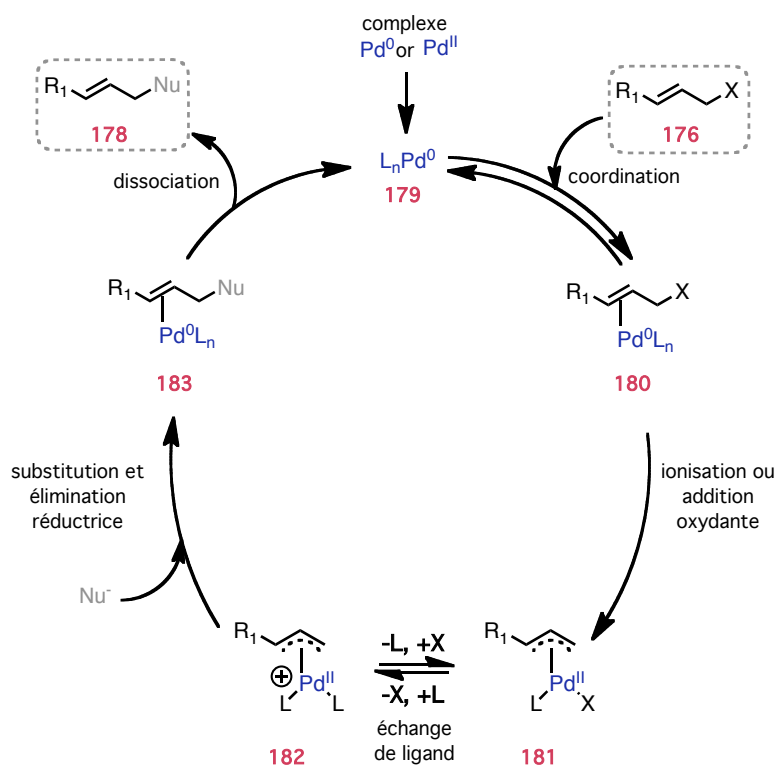


Schéma 40 : Mécanisme de la réaction de Tsuji-Trost

Il faut savoir que l'étape de coordination est réversible et que par conséquent, le palladium peut s'interconvertir entre les deux faces de l'oléfine.

¹⁷³ (a) Frost, C. G.; Howarth, J.; Williams, M. J. *Tetrahedron: Asymmetry*, **1992**, 3, 1089-1122. (b) Kürti, L.; Czakó, B. *Strategic applications of named reactions in organic synthesis*, Elsevier, **2005**, 459-460. (c) Trost, B. M.; Machacek, M. R.; Aponick, A. *Acc. Chem. Res.* **2006**, 39, 747-760.

D'autre part, l'étape d'addition oxydante ou d'ionisation se produit avec inversion de configuration.¹⁷⁴ Comme le départ du groupement partant a lieu au moment de l'arrivée du palladium, cette étape peut s'apparenter à une réaction de type S_N2 . Au cours de ce processus, on crée l'intermédiaire π -allylpalladium, complexe à 16 électrons, qui possède une géométrie plan carré.¹⁷⁵ Ce complexe est en équilibre entre sa forme η^3 -allyl et η^1 -allyl, on parle alors d'interconversion π - σ - π (Schéma 41).

Si le complexe σ se forme du côté du carbone primaire (voie A), on obtient l'intermédiaire **185**. Une rotation de 180°C autour de la liaison σ équivaut alors à une coordination sur l'autre face de l'allyl. Si le complexe σ se forme du côté du carbone secondaire (voie B), on obtient cette fois-ci l'intermédiaire **188**. Le même processus de rotation autour de la liaison σ équivaut toujours à un changement de face, mais il entraîne également un changement de stéréochimie qui conduit au complexe *anti* **190** au lieu du complexe *syn* **187**. Pour les substrats cycliques, la libre rotation est bloquée en position *anti* alors que rien n'est fixé pour les substrats acycliques à cause des équilibres. En règle générale, l'approche du palladium se fait de façon antipériplanaire au groupement partant et le complexe *syn* **187** reste le plus actif puisqu'il évite certaines interactions défavorables.

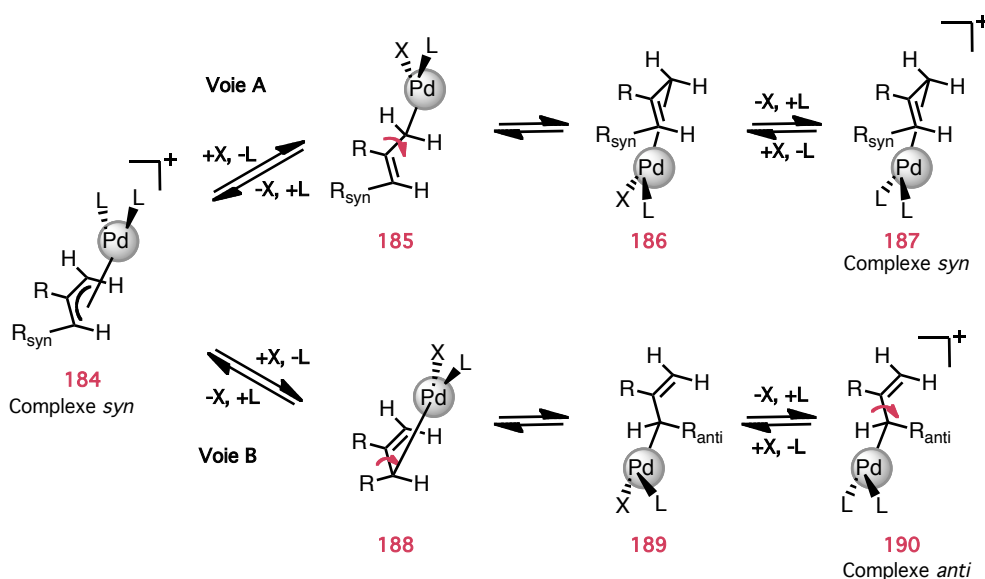


Schéma 41 : Interconversion π - σ - π

De son côté, l'addition du nucléophile sur le complexe π -allylpalladium est aussi régiosélective. Pour assurer une trajectoire antipériplanaire, par rapport au palladium, le nucléophile procède à une attaque *exo* (Schéma 42).

¹⁷⁴ (a) Hayashi, T.; Hagihara, T.; Konishi, M. Kumada, M. *J. Am. Chem. Soc.* **1983**, *105*, 7767-7768 (b) Mackenzie, P. B.; Whelan, J.; Bosnich, B. *J. Am. Chem. Soc.* **1985**, *107*, 2046-2054.

¹⁷⁵ Godleski, S. A.; Gundlach, K. B.; Ho, H. Y.; Keinan, E.; Frolow, F. *Organometallics*, **1984**, *3*, 21-28.

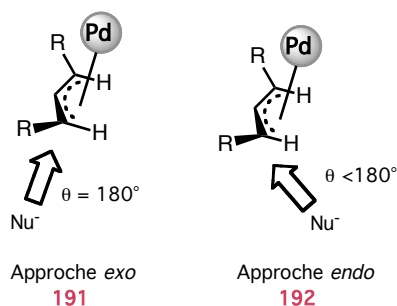


Schéma 42 : Approches possibles lors de l'attaque nucléophile

Une nuance mécanistique importante apparaît selon la nature du nucléophile mis en jeu. Fiaud et Legros ont élaboré une classification des nucléophiles.¹⁷⁶ De façon générale, les nucléophiles durs ($pK_a > 20$) attaquent l'espèce métallique, ce qui conduit à une étape de transmétaallation, alors que les nucléophiles mous ou stabilisés ($pK_a < 20$) attaquent directement le ligand allyl, entraînant une simple décomplexation (Schéma 43). Du point de vue de la stéréosélectivité, un nucléophile mou conduit à une inversion de configuration alors qu'un nucléophile dur favorise une totale rétention de configuration.

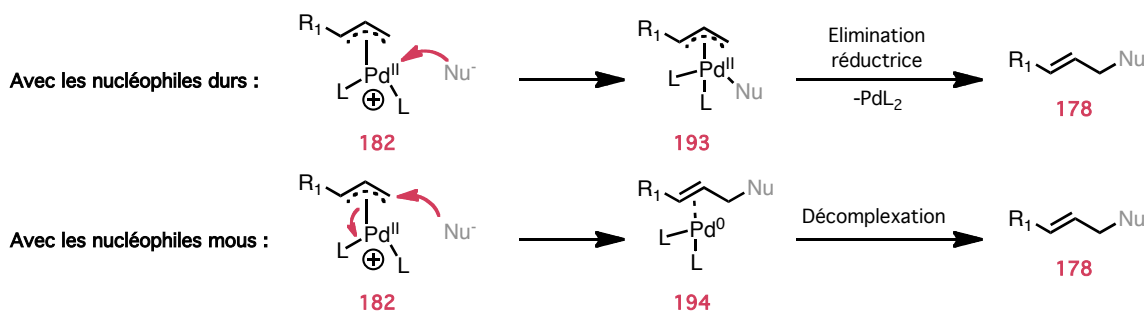


Schéma 43 : Différence mécanistique entre nucléophiles durs et nucléophiles mous

La plupart du temps, l'addition sur l'espèce π -allylpalladium **182** se fait sur la position la moins encombrée, indifféremment de la position initiale du groupement partant. Toutefois, cette régiosélectivité peut être influencée par les effets électroniques ou stériques du complexe palladié.

Si l'on considère les effets stériques, la substitution se fait normalement sur l'extrémité la moins encombrée du complexe π -allylpalladium pour former le composé **194** (Schéma 44). En présence de ligands encombrants, le palladium se positionne cette fois-ci du côté occasionnant le moins de gêne stérique, ce qui conduit à une attaque du nucléophile sur le carbone le plus encombré et à la formation de la molécule **195**.

¹⁷⁶ Fiaud, J.-C.; Legros, J.-Y. *J. Org. Chem.* **1987**, 52, 1907-1911.

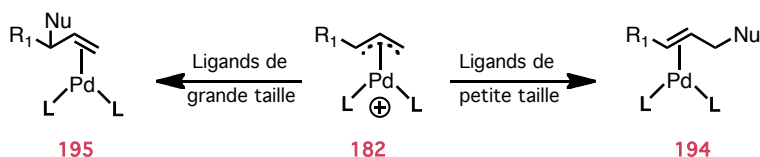


Schéma 44 : Influence de l'effet stérique des ligands sur la régiosélectivité

De la même façon, la nature électronique des ligands change totalement la stabilité et la réactivité du complexe. La présence de ligands accepteurs sur le palladium favorise le caractère cationique de l'allyl. Ce dernier aura alors tendance à se placer sous sa forme cationique la plus stable (**196**) et à favoriser les attaques nucléophiles sur les carbones les plus encombrés (**195**). Inversement, les ligands donneurs d'électrons vont diminuer le caractère cationique de l'allyl et conduire à une attaque du nucléophile sur le carbone le moins encombré (**194**) (Schéma 45). Finalement, sur des substrats comportant plusieurs doubles liaisons, l'espèce de Pd⁰ plutôt riche en électrons va préférer se lier aux oléfines pauvres en électrons.

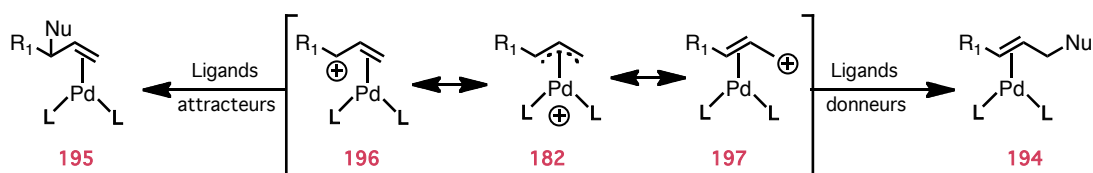


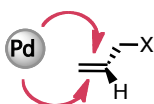
Schéma 45 : Influence des effets électroniques des ligands sur la régiosélectivité

I. 3. Processus d'énantiosélection

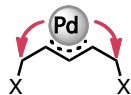
Les AAA sont des réactions chimiques ayant la capacité de convertir un produit de départ racémique en un composé optiquement actif, en une seule étape. Au cours du cycle catalytique, chacune des cinq étapes peut être une source d'induction asymétrique (Schéma 46).¹⁷⁷ La première étape du mécanisme, qui consiste à complexer le métal à l'oléfine, doit avoir lieu sur l'une des faces énantiotopiques de la double liaison (type A). Au cours de la phase d'ionisation, sur des substrats symétriques ayant deux groupes partants, il peut y avoir discrimination entre ces deux groupes partants énantiotopiques (type B). Un complexe chiral de palladium peut aussi discriminer les deux faces énantiotopiques du complexe η^1 -allyl (type C). Pendant la phase d'alkylation, il peut y avoir reconnaissance d'une des extrémités énantiotopiques d'un intermédiaire méso- π -allyl (type D) ou bien reconnaissance, par le nucléophile, d'une des faces énantiotopiques (type E). Dans tous les cas, il est intéressant de se demander comment le complexe de palladium parvient à transmettre l'information chirale au produit final.

¹⁷⁷ Trost, B. M. *Chem. Rev.* **1996**, 96, 395-422.

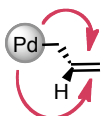
Type A : Faces énantiotopiques de l'alcène



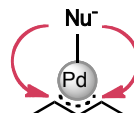
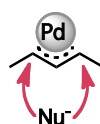
Type B : Groupes partants énantiotopiques



Type C : Faces énantiotopiques de l'allyle



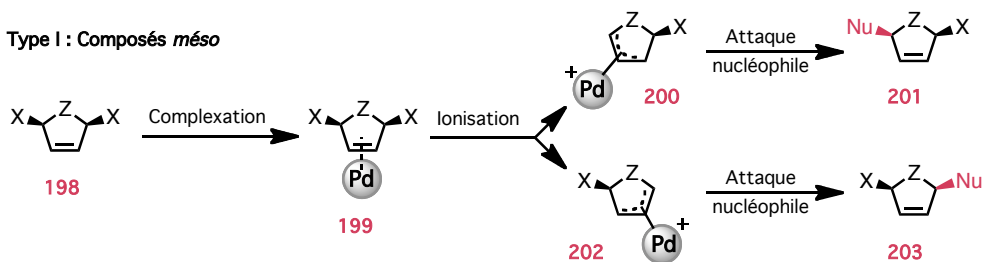
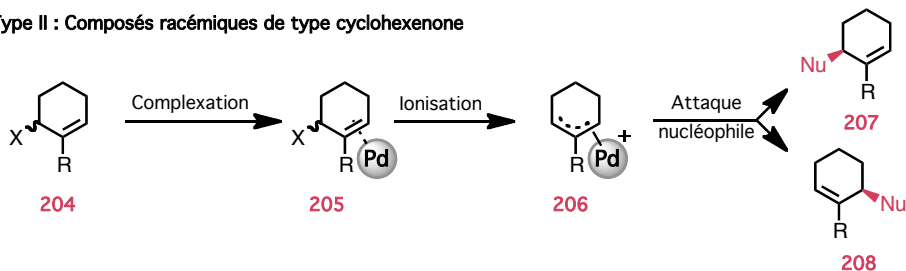
Type D : Extrémités énantiotopiques de l'allyle



Type E : Faces énantiotopiques du nucléophile

**Schéma 46 : Sources d'énantiodiscrimination au cours des AAA**

Les AAA ont récemment fait leurs preuves dans des synthèses totales de produits naturels et notamment pendant les fonctionnalisations des composés cycliques. Pour les composés *méso* de type I (**198**), l'étape énantiodiscrimante est la formation du complexe η^3 -allylpalladium **200** ou **202** puisque l'on peut éliminer l'un ou l'autre des groupes partants énantiotopiques (Schéma 47). Le nucléophile est alors introduit du côté le moins encombré avec une rétention de configuration globale pour former les composés **201** ou **203**. Avec les molécules de type II (**204**), travailler avec des substrats énantiopurs n'est pas primordial car la formation du complexe η^3 -allylpalladium **206** induit une perte d'information chirale. L'étape énantiodiscrimante étant, cette fois-ci, l'attaque nucléophile sur l'une ou l'autre des faces énantiotopiques du π -allyl pour donner les composés **207** ou **208**.¹⁷⁸

Type I : Composés méso**Type II : Composés racémiques de type cyclohexénone****Schéma 47 : Différentes voies réactionnelles sur les composés cycliques**

¹⁷⁸ Graening, T.; Schmalz, H.-G. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, 42, 2580-2584.

I. 4. Conception et développement de ligands

Nous avons vu précédemment que les étapes d'ionisation et d'attaque nucléophile se faisaient de manière antipériplanaire. De ce fait, les ruptures et les formations de liaisons se produisent en dehors de la sphère de coordination du métal et par conséquent sur la face opposée à celle portant la chiralité. Ceci représente un défi majeur lorsque l'on cherche à développer des procédés énantiosélectifs efficaces. Les chimistes ont donc synthétisé une large gamme de ligands chiraux pour essayer de pallier ce problème.

Trois différents concepts de ligands ont été développés :¹⁷⁹

- les ligands substitués par une chaîne assez longue pour se retrouver sur l'autre côté de l'unité π -allyl et transmettre l'information chirale (ex. **209**)
- les ligands porteurs d'une dissymétrie électronique qui rend les longueurs des deux liaisons C-Pd différentes une fois le complexe formé, ce qui favorise l'attaque sur l'une ou l'autre des extrémités du complexe π -allyl (ex. **210** ou **211**)
- les ligands formant un espace chiral pouvant contenir le substrat (ex. **212** ou **213**). Le positionnement des phényles sur le phosphore et leurs interactions avec le substrat sont alors la source de l'induction asymétrique.

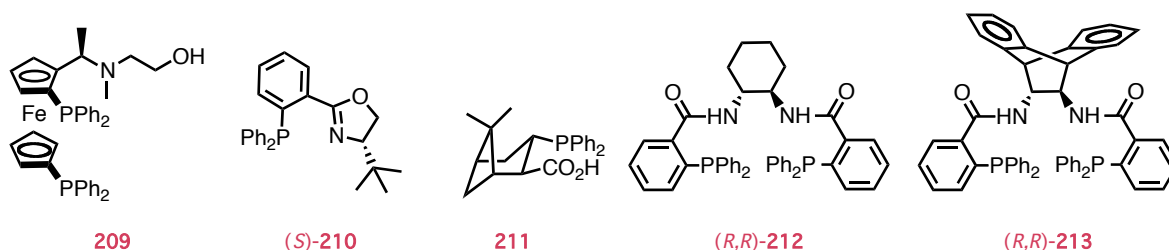


Figure 23 : Quelques exemples de ligands utilisés pour les AAA

Pour la dernière catégorie, l'espace chiral qui enveloppe le substrat allylique dépend fortement de l'angle P-Pd-P. Lorsque cet angle est important, le substrat est bien incorporé dans la poche chirale. D'un point de vue chimique, la synthèse de ligand, comme **212** ou **213**, respectant cette contrainte géométrique doit être facile et rapide (Schéma 48).

¹⁷⁹ Trost, B. M. *Acc. Chem. Res.* **1996**, 29, 355-364.

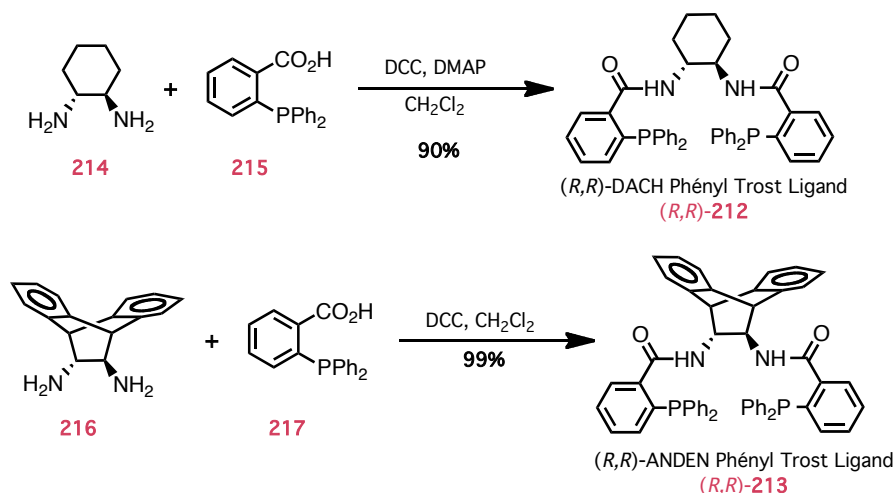


Schéma 48 : Synthèse de deux ligands de Trost

Des centaines de ligands ont été développés pour les allylations asymétriques.¹⁸⁰ Que ce soit des ligands phosphorés monodentates, des ligands bidentates (C,N / N,N / N,P / N,S / P,O / P,P / P,S) ou des ligands multidentates, ils ont tous permis d'améliorer les régio- et énantio-sélectivités. Par conséquent, le procédé d'AAA a pu se répandre dans de nombreuses synthèses de produits naturels.

I. 5. Modèle de prédiction de l'induction asymétrique

I.5.1. Etape énantiodéterminante : l'ionisation

En utilisant des ligands dérivés de l'acide diphénylphosphinobenzoïque (DPPBA), comme **212**, dans des réactions d'AAA catalysées par le palladium, le groupe de Trost a effectué une corrélation entre la configuration absolue du ligand utilisé et la stéréochimie du produit obtenu (Schéma 49). La projection de Newman le long de la liaison C-C porteuse des fonctions amides, montre que les phosphines définissent soit une rotation horaire, soit une rotation anti-horaire.¹⁷⁹

¹⁸⁰ Lu, Z.; Ma, S. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007** 46, 2-42.

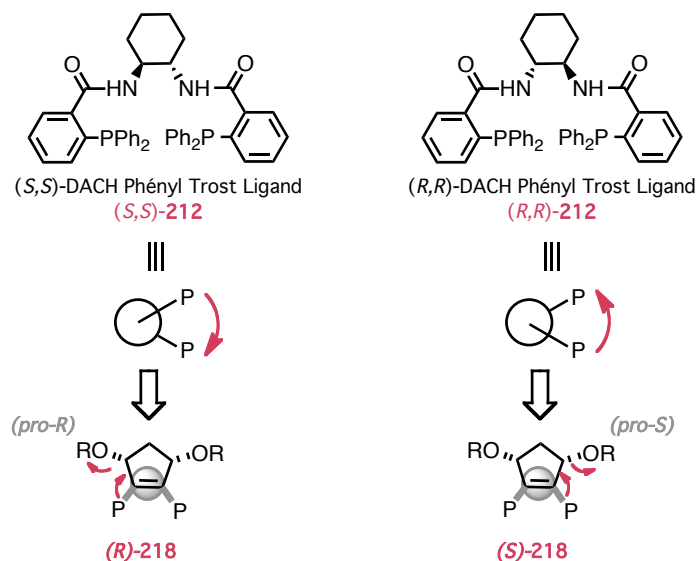


Schéma 49 : Corrélation entre la configuration absolue du ligand et la stéréochimie de la réaction

En plaçant le substrat dans le plan de la feuille et le catalyseur au-dessus, il est possible d'effectuer une prévision de la stéréochimie. En effet, un ligand *(S,S)*-**212**, dont les phosphines indiquent une rotation horaire, conduit à un mouvement horaire du catalyseur et au départ préférentiel du groupe *pro-R* et inversement. En revanche, si l'étape énantiodéterminante est l'attaque du nucléophile, cette représentation simplifiée peut conduire à des erreurs de prédiction et un modèle plus développé est alors nécessaire.

1.5.2. Etape énantiodéterminante : l'attaque du nucléophile

En faisant l'hypothèse que le catalyseur contient exactement un ratio 1:1 de palladium et de ligand DPPBA **212** et en utilisant une conformation fondamentale minimalisée, un modèle simplifié a pu être développé.^{173c} Celui-ci s'appuie sur la symétrie C_2 du ligand ainsi que sur certaines données structurales qui suggèrent que la coordination du complexe π -allyl ne se fait pas de manière symétrique.¹⁸¹ Il considère également que le complexe π -allylpalladium se trouve sous sa forme monomérique et que le ligand DPPBA **212** est coordonné au palladium selon une symétrie C_2 . En réalité, les complexes π -allylpalladium sont en équilibre entre leurs formes monomérique et oligomérique. Cet équilibre est gouverné par des facteurs tels que la concentration, la température ou encore le contre-ion du catalyseur.

¹⁸¹ (a) Trost, B. M.; Breit, B.; Peukert, S.; Zambrano, J.; Ziller, J. W. A. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1995**, *34*, 2386-2388. (b) Lloyd-Jones, G. C.; Stephen, S. C.; Fairlamb, I. J. S.; Martorell, A.; Dominguez, B.; Tomlin, P. M.; Murray, M.; Fernandez, J. M.; Jeffery, J. C.; Riis-Johannessen, T.; Guerziz, T. *Pure Appl. Chem.* **2004**, *76*, 589-601.

Sur le ligand (R,R)-DPPBA, deux des groupements phényles se trouvent face à face et quasiment perpendiculaire au groupe allyl tandis que les deux autres se placent dans le même plan que ce dernier (Figure 24). Cet agencement crée un environnement chiral dans lequel les quadrants avant-gauche et arrière-droit sont bloqués par la gêne stérique générée par les phényles situés face à face l'un par rapport à l'autre.

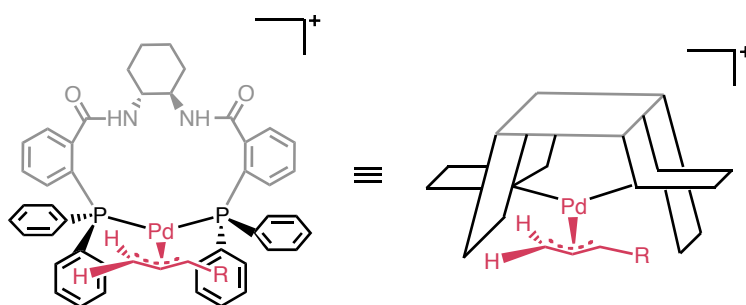


Figure 24 : Simplification du complexe de palladium avec les ligands DPPBA

Nous avons déjà vu que les étapes d'ionisation et d'attaque nucléophile se font selon une approche *exo* pour des raisons stéréoelectroniques. Par conséquent, l'arrivée d'un nucléophile ou le départ d'un groupe partant, par les quadrants arrières, ne sera pas favorable. D'après le modèle, les deux quadrants vers l'avant se différencient par des effets stériques (Figure 25). La gêne causée par le phényle dans le quadrant avant-gauche (voie A), favorise le départ d'un groupe partant par le quadrant avant-droit (voie B). De la même façon, un nucléophile préférera attaquer le quadrant avant-droit, plus facile d'accès (voie D).

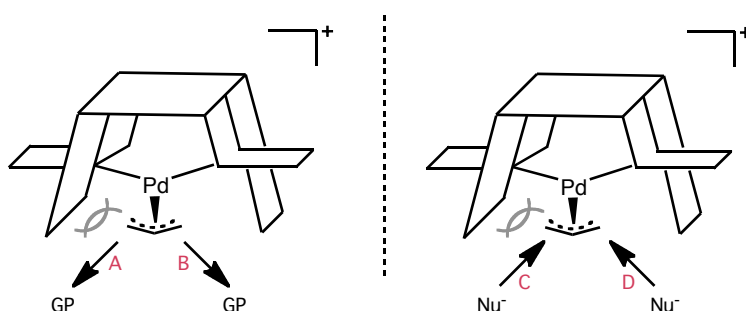


Figure 25 : Etats de transition favorisés au cours de l'ionisation et de l'attaque nucléophile

Ce modèle peut être appliqué aux divers cas d'induction de chiralité dont nous avons discuté précédemment. Si l'on observe le cas de la création d'un centre asymétrique sur le nucléophile, comme ce sera le cas dans la partie « résultats personnels », le ligand chiral doit alors influencer l'approche du nucléophile entrant.

Si l'on considère l'allylation de la tétralone **219** par l'allylacétate, plusieurs approches peuvent être considérées (Schéma 50).¹⁸² Cette réaction met en jeu un système catalytique composé du ligand de Trost (*S,S*)-**212** et du dimère d'allylchloropalladium, ce qui permet l'obtention du composé allylé **221** avec un excellent rendement de 99 % et un très bon excès énantiomérique de 88 %.

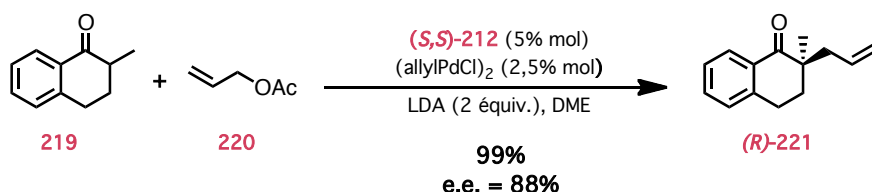


Schéma 50 : AAA de la tétralone

En appliquant le modèle, on constate que les contraintes stériques engendrées par les groupes phényles forcent l'approche par le quadrant avant-gauche conduisant ainsi à la formation préférentielle de l'énantiomère de configuration (*R*) (Schéma 51).

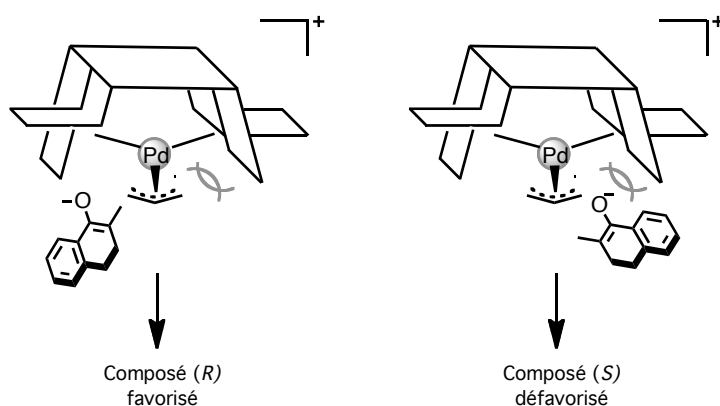


Schéma 51 : Reconnaissance chirale pendant l'AAA de la tétralone

I. 6. Applications en synthèse totale de la réaction d'AAA

I.6.1. Synthèse totale de l'hamigeran B

Le groupe de Trost, pionnier dans les récents développements sur les alkylations allyliques d'énolates de cétone, a appliqué sa méthodologie à l'élégante synthèse de l'hamigeran B **226**.¹⁸³ Cet agent antiviral potentiel a été isolé de l'éponge marine *Hamigera tarangaensis*.¹⁸⁴

¹⁸² Trost, B. M.; Schroeder, G. M. *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 6759-6760.

¹⁸³ Trost, B. M.; Pisso-Soldermann, C.; Chen, I.; Schroeder, G. M. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 4480-4481.

¹⁸⁴ Wellington, K. D.; Cambie, R. C.; Rutledge, P. S.; Berquist, P. R. *J. Nat. Prod.* **2000**, *63*, 79-85.

La voie synthétique adoptée repose sur l'installation rapide du centre quaternaire porteur du substituant méthyl (Schéma 52). Pour se faire, une AAA a été envisagée entre la cétone cyclique **222** et l'allylacétate. Dans des conditions optimisées et avec l'aide du ligand (*R,R*)-**212**, ils ont obtenu le produit alkylé désiré **223** avec un rendement de 77 % et un remarquable excès énantiomérique de 93 %. Après la transformation de la cétone **223** en triflate **224**, ils ont envisagé de créer le dernier cycle par une réaction de Heck intramoléculaire. Ils sont parvenus à cycliser avec un rendement de 58 % et ont ainsi pu isoler le composé tricyclique **225**. Quelques étapes supplémentaires ont permis de compléter la synthèse totale et d'atteindre la molécule cible **226**.

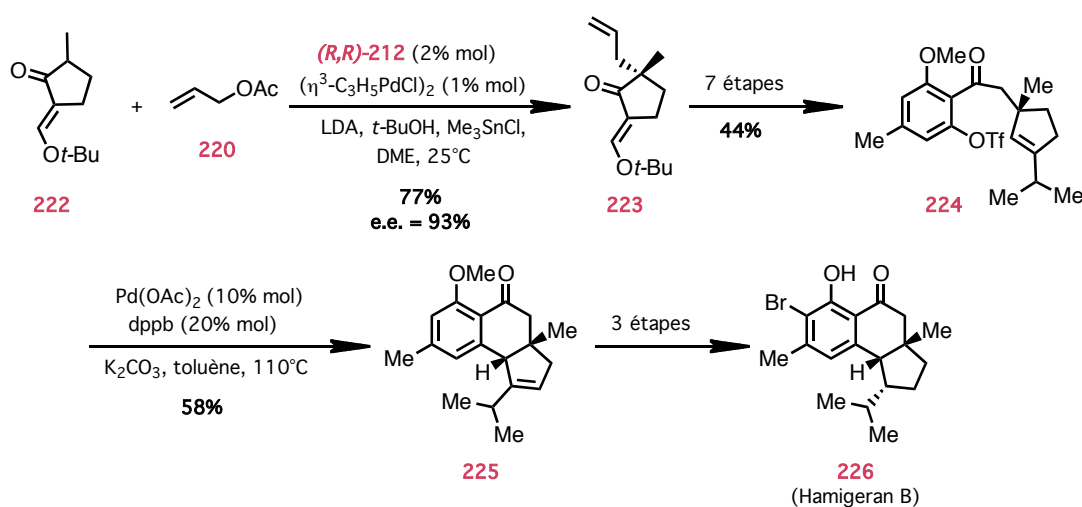


Schéma 52 : Synthèse totale de l'hamigeran B

La réaction de Tsuji-Trost sur le composé **222** avec le ligand (*S,S*)-**212**, cette fois-ci, a également permis d'aboutir à la synthèse totale de la (+)-allocyathin B2, connu en tant qu'analgésique.¹⁸⁵

1.6.2. Synthèse de la (–)-métazocine

Les modifications fonctionnelles autour de la (–)-morphine ont découlé sur la famille des benzomorphanes, dont fait partie la (–)-métazocine. Sans grande surprise, l'activité pharmacologique de ces substrats dépend beaucoup de la configuration absolue de la molécule. En 2003, une synthèse énantiosélective de cet analgésique a été rendue possible grâce à la réaction d'AAA catalysée par le palladium à partir d'une cétone prochirale **227** (Schéma 53).¹⁸⁶ La différenciation des faces énantiotopiques par le nucléophile a été décrite avec le ligand (*R,R*)-**212**, ce qui a permis la formation de l'amine **229** avec d'excellents rendements et excès énantiomériques. L'emploi d'une isomérisation puis d'une réaction d'hydroamination intramoléculaire diastéréosélective simultanée, a joliment conclu cette synthèse.

¹⁸⁵ Trost, B. M.; Dong, L.; Schroeder, G. M. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 2844-2845.

¹⁸⁶ Trost, B. M.; Tang, W. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 8744-8745.

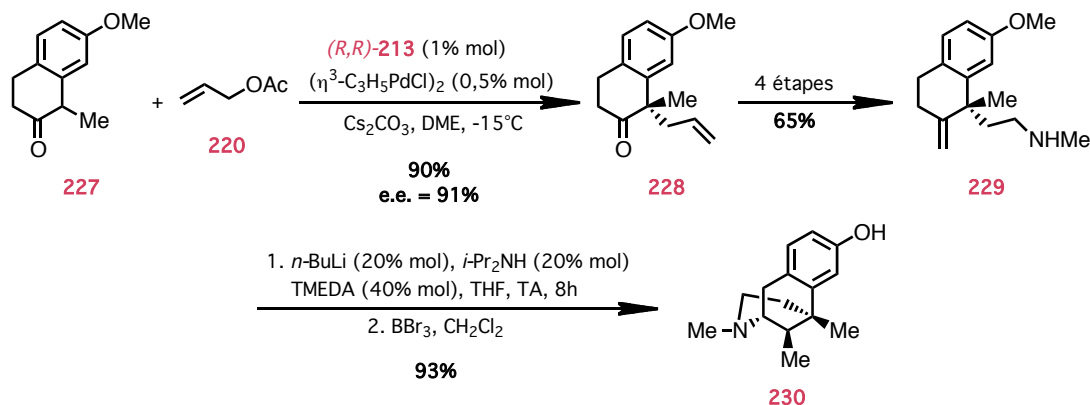


Schéma 53 : Synthèse de la (-)-métazocine

I.6.3. Synthèse asymétrique de la (-)-nitramine

L'approche synthétique choisie par Trost pour la synthèse de ce spiro-alcaloïde a été la source d'inspiration pour le commencement de nos travaux (Schéma 54).¹⁸⁷ A partir du β -cétoester **231**, il parvient à créer le carbone quaternaire avec un rendement de 86% et un excès énantiomérique de 86% en utilisant le ligand chiral (R,R)-**212**, développé dans son laboratoire. Conformément au modèle de prédiction, l'emploi du ligand de configuration absolue (R,R), lui permet d'obtenir l'énantiomère *S* du composé **232**.

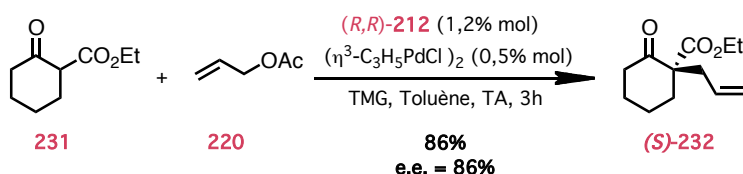


Schéma 54 : Application de la réaction de Tsuji-Trost à la synthèse de la (-)-nitramine

La suite de la séquence réactionnelle paraît tout aussi intéressante pour nous puisqu'il réalise une séquence d'hydroboration de l'alcène accompagnée d'une réduction simultanée de la cétone du composé **232**. L'utilisation successive du disiamylborane **233** et du perborate de sodium permet l'obtention d'un seul diastéréoisomère du diol **235** (Schéma 55). Il ne reste alors plus que trois étapes pour terminer la synthèse asymétrique de la (-)-nitramine **236**.

¹⁸⁷ Trost, B. M.; Radinov, R.; Grenzer, E. M. *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 7879-7880.

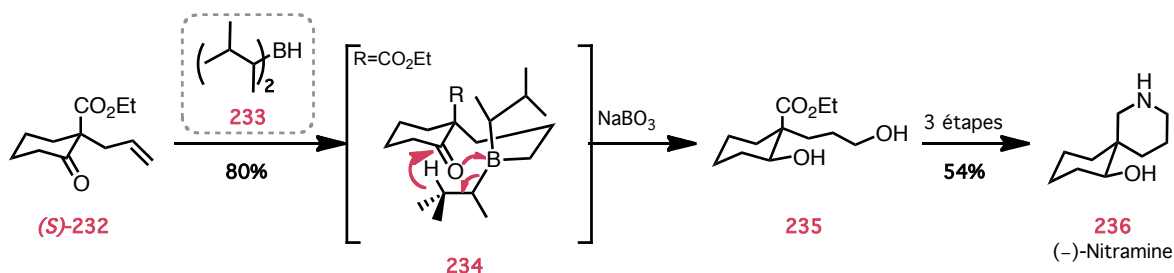


Schéma 55 : Séquence d'hydroboration/oxydation pour la synthèse de la (-)-nitramine

II. Résultats personnels et discussion

II. 1. Analyse rétrosynthétique

Fort des connaissances acquises avec la synthèse de la (-)-nitramine, nous avons choisi d'appliquer cette méthodologie pour la création du centre quaternaire de la GYM A **8a**. À partir d'un β -cétoester de type **170** et en choisissant correctement la configuration absolue du ligand mis en jeu, il devrait être possible d'obtenir la bonne stéréochimie sur le composé **169** (Schéma 56). Puis il nous serait possible d'accéder à la spiroimine **166** *via* la spirolactone **168**.

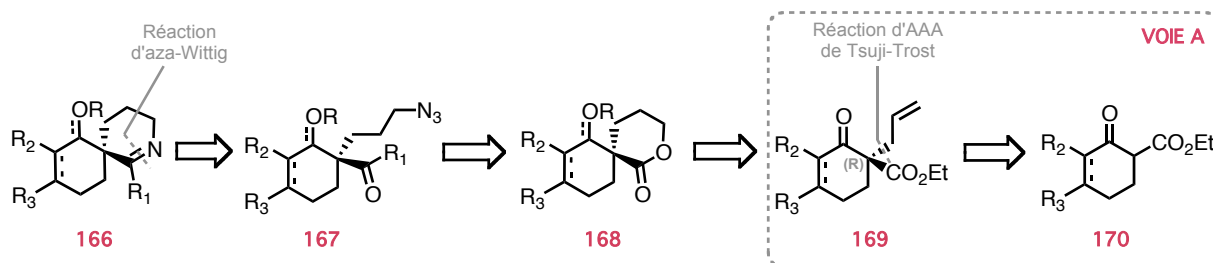


Schéma 56 : Rappel de la rétrosynthèse passant par la réaction de Tsuji-Trost

Dans un premier temps, il nous est apparu intéressant de réaliser la synthèse de la spiroimine **237** avec R=TBS en version énantiomériquement enrichie (Figure 26). En effet, une étude comparative des résultats biologiques entre la molécule racémique et la molécule énantiomériquement enrichie serait un atout appréciable pour la compréhension du mode d'interaction entre l'imine et les récepteurs nicotiniques de l'ACh. De plus, la synthèse de la même spiroimine sans l'insaturation endocyclique **238** nous permettrait d'évaluer l'importance de cette double liaison.

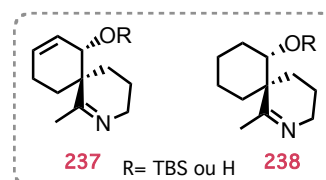


Figure 26 : Objectif n°1

Dans un second temps, une synthèse énantiosélective de la spiroimine **130** a aussi été envisagée (Figure 27). Des études de co-cristallisation entre chaque énantiomère de **130**, séparés par HPLC, et l'ACHBP sont actuellement en cours. Une synthèse énantiosélective permettrait de déterminer la configuration absolue de chaque énantiomère et d'obtenir plus de produit optiquement actif pour réaliser les tests biologiques.

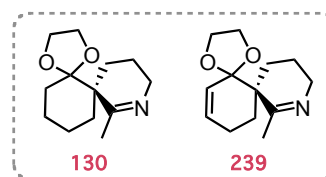


Figure 27 : Objectif n°2

Enfin, dans le cadre d'une synthèse totale, la formation de substrats modèles n'est pas suffisante. Il semble donc essentiel de réaliser la synthèse d'une spiroimine **240** plus fonctionnalisée qui pourrait nous permettre de mener à bien notre projet.

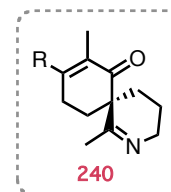


Figure 28 : Objectif n°3

II. 2. Étude de l'étape énantiosélective : l'AAA

II.2.1. Version racémique

Pour la détermination des excès énantiomériques de nos molécules, l'obtention du produit racémique est indispensable. Pour y parvenir, nous avons suivi les modes opératoires décrits par Trost¹⁸⁸ et Undheim (Schéma 57).¹⁸⁹ Le substrat **231** a été solubilisé dans du DMF puis déprotoné par de l'hydruure de sodium. L'attaque sur le bromure d'allyl a conduit au substrat saturé **232**, avec des rendements similaires à ceux des publications. Malheureusement, avec le substrat insaturé **241**, une chute significative du rendement a été observée puisque le produit de départ a été récupéré en grande majorité.

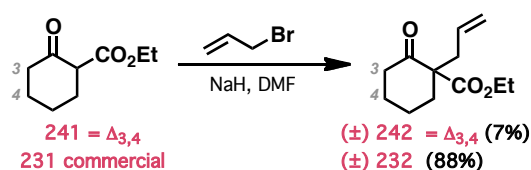
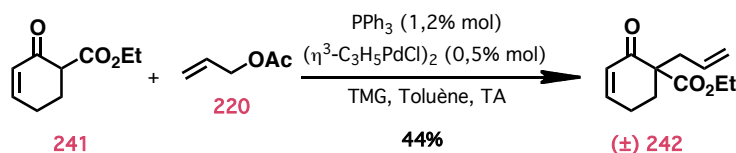


Schéma 57 : Allylation racémique par le bromure d'allyl

Pour pallier ce problème, nous avons décidé de réaliser une alkylation allylique racémique catalysée par le palladium avec un ligand achiral, comme la triphénylphosphine (Schéma 58). Cette stratégie nous a permis d'augmenter le rendement en **242** de 7 à 44 %.

¹⁸⁸ Trost, B. M.; Shi, Y. *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 9421-9438.

¹⁸⁹ Aburel, P. S.; Rømming, C.; Ma, K.; Undheim, K. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **2001**, 1458-1472.

Schéma 58 : Alkylation racémique catalysée par le palladium avec utilisation de PPh_3

L'utilisation d'une colonne HPLC chirale (colonne IC 5 mm, 4.6 x 250 mm) et d'un système d'élution composé d'heptane et d'isopropanol (v/v 95/5 ou v/v 90/10), en mode isocratique, a permis de déterminer les temps de rétention de chacun des énantiomères (Tableau 10).

SUBSTRAT	ELUANT	TEMPS DE RÉTENTION DES ÉNANTIOMÈRES
232	95/5	9,3 et 10,1 min
242	90/10	18,0 et 21,1 min

Tableau 10 : Temps de rétention des différents énantiomères des composés allyliques

II.2.2. Version énantiosélective et détermination des conditions optimales

Pour parvenir à former le centre quaternaire des spiroimines avec un bon rendement et un bon excès énantiomérique, une AAA selon le procédé de Tsuji-Trost a donc été envisagée. La série de ligands, spécialement développée par Trost (212, 213, 243 et 244) pour ce type de réaction, ainsi que quelques autres ligands ont été testés sur le substrat 241 (Figure 29).¹⁷⁸

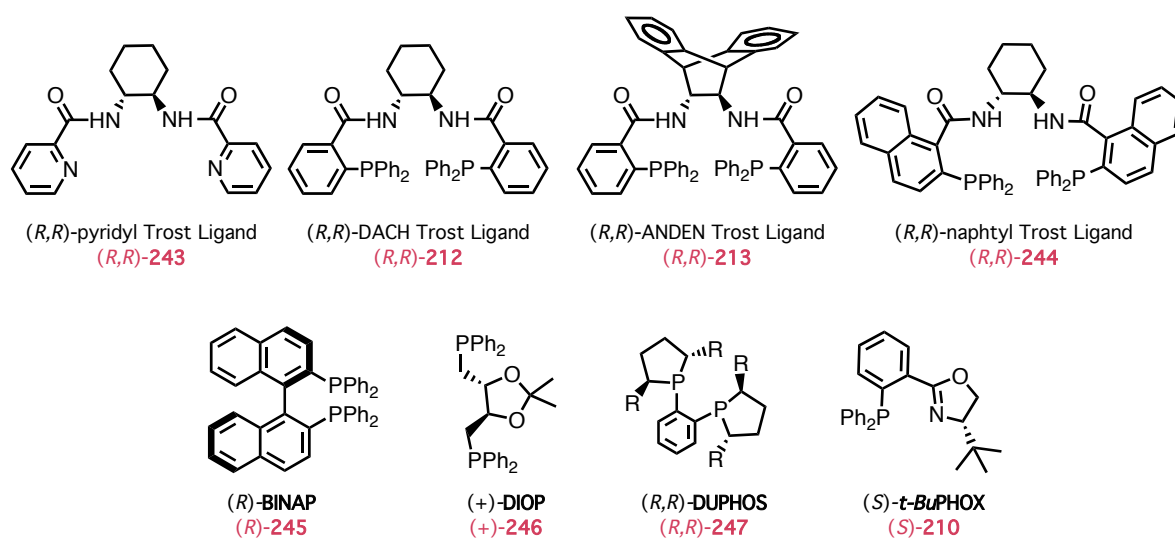


Figure 29 : Liste des ligands utilisés pour le développement de l'étape d'AAA

À notre connaissance, l'énone **241** n'a jamais été engagée dans une AAA ; c'est pourquoi, plusieurs réactions en parallèle ont été menées pour optimiser les résultats (Tableau 11). À chaque fois, le ligand a été mélangé au dimère du chlorure d'allylpalladium pour préformer le système catalytique, puis l'allylacétate, la tétraméthylguanidine (TMG) et le β -cétoester **241** ont été additionnés à température ambiante (Schéma 59).

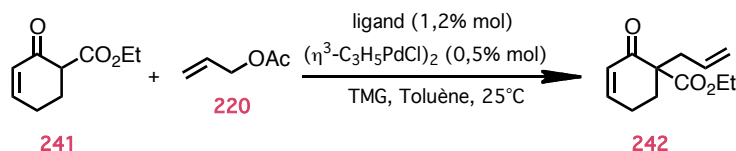


Schéma 59 : AAA du β -cétoester **241**

ENTRÉE	LIGAND	RENDEMENT (%)	EXCÈS ÉNANTIOMÉRIQUE ^(a) (%)
1	(R)- 245	35	-10
2	(R,R)- 247	26	+4
3	(+)- 246	27	+4
4	(S)- 210	41	+24
5	(R,R)- 243	0	-
6	(R,R)- 244	59	-72
7	(R,R)- 213	30	-14
8	(R,R)- 212	70	-77

(a) : le signe positif devant l'excès énantiomérique correspond à un pouvoir rotatoire positif et *vice-versa*

Tableau 11 : Recherche du meilleur ligand pour l'allylation de Tsuji-Trost

On remarque tout de suite que les ligands plus classiques comme la (R)-BINAP **245** (entrée 1), la (R,R)-DUPHOS **247** (entrée 2) ou le (+)-DIOP **246** (entrée 3) n'entraînent pas, ou très peu, d'énantiosélection. Le résultat avec l'oxazoline (S)-**210** n'est guère plus convaincant (entrée 4).

Avec les ligands de Trost, les résultats varient énormément. On constate tout d'abord que la présence des phosphines sur le ligand est essentielle puisqu'il n'y a aucune conversion du β -cétoester **241** avec le ligand bidentate N,N (R,R)-**243** (entrée 5). En revanche, deux ligands se distinguent particulièrement, conduisant à de bons excès énantiomériques : les ligands (R,R)-**212** et (R,R)-**244** (entrées 6 et 8).

Pour tenter d'améliorer ces résultats, d'autres essais ont été réalisés en faisant varier la température du milieu réactionnel (Tableau 12). Nous avons choisi de poursuivre les investigations avec le ligand (*S,S*)-**212** puisque son énantiomère a donné les meilleurs résultats (Tableau 11, entrée 8). De plus, le ligand (*S,S*) devrait conduire à l'énantiomère de la spiroimine ayant la même configuration absolue que le produit naturel **8a** (cf. II. 2. 4.)

ENTRÉE	TEMPÉRATURE (°C)	RENDEMENT (%)	EXCÈS ÉNANTIOMÉRIQUE ^(a) (%)
1	25	66	+78
2	-20	74	+79
3	-78	50	+63

(a) : le signe positif devant l'excès énantiomérique correspond à un pouvoir rotatoire positif

Tableau 12 : Influence de la température

L'abaissement de la température à -20°C a permis de former le substrat désiré avec un rendement de 74 % et un excès énantiomérique de 79 % (entrée 2). À plus basse température, la réaction semble beaucoup plus lente et les conversions ne sont plus totales. Les rendements isolés sont par conséquent moins bons, et une baisse significative de l'excès énantiomérique a également été observée (entrée 3).

Au cours de toutes ces expériences, et surtout pendant les réactions sur plus grandes quantités (de 1 à 5 g), nous avons observé un phénomène de dimérisation en spectroscopie de masse. Ces sous-produits pouvant représenter jusqu'à 30 % de la masse finale. La concentration du milieu réactionnel a donc également été évaluée avec le ligand (*S,S*)-**212**, en effectuant la réaction pendant une nuit à température ambiante (Tableau 13).

ENTRÉE	CONCENTRATION EN 241 (mmol/mL)	CONVERSION (%)	RENDEMENT (%)	EXCÈS ÉNANTIOMÉRIQUE (%)
1	0,6	100	66	78
2	0,4	90	61	77
3	0,2	80	52	82

Tableau 13 : Effet de la concentration

Globalement, un milieu réactionnel plus dilué ralentit la vitesse de la réaction et conduit à des conversions non totales. Pour une concentration de 0,6 mmol/mL, la conversion est totale mais la répétabilité de la réaction n'est pas assurée à cause du phénomène de dimérisation (entrée 1). À une concentration de 0,2 mmol/mL, la conversion n'est que de 80 % et malgré les bons excès, les rendements isolés sont plus faibles (entrée 3). Un compromis à 0,4 mmol/mL est donc préférable pour les grandes échelles (entrée 2).

Pour améliorer ses résultats en termes d'excès énantiomérique et de rendement, Trost a aussi joué sur d'autres paramètres. En 1999, au cours de l'une de ces études d'optimisation sur la 2-méthyl-1-tétralone, il a montré l'importance de l'utilisation d'une base lithiée (LDA) pour la stabilisation de l'énolate et le bienfait du DME comme solvant pour éviter les agrégations.¹⁹⁰ Il a aussi prouvé que l'ajout d'additif, comme le chlorure de triméthylétain, a un effet significatif sur les rendements et l'énantiosélectivité. D'autre part, dans l'une de ses communications, Trost a démontré que la présence de *t*-butanol en large excès dans le milieu réactionnel améliorerait considérablement les rendements ainsi que les excès énantiomériques.¹⁹¹ Dans ces conditions, les auteurs supposent que l'on forme du tert-butanolate de lithium, qui est une base non-nucléophile.

Deux expériences supplémentaires ont donc été réalisées, à température ambiante, pour tester ces conditions sur le substrat **241** avec le ligand **212**. Malheureusement, ces essais se sont révélés peu concluants puisque les rendements ne dépassent pas 15-20% (Tableau 14). Il est à noter que la cinétique de la réaction devient alors beaucoup plus lente.

ENTRÉE	CONDITIONS	CONVERSION (%)	RENDEMENT (%)	DURÉE (jours)
1	Me ₃ SnCl	50	15	5
2	Me ₃ SnCl + <i>t</i> -BuOH	60	20	5

Tableau 14 : Influence des additifs et d'une base lithiée sur l'AAA d'énolate de cétone

Pour une réaction optimisée, l'AAA sur le β -cétoester **241** doit être réalisée avec une quantité catalytique de ligand **212** (1,2% mol) et de dimère d'allylchloropalladium (0,5% mol) (Schéma 60). En plus de la présence d'une base, comme la tétraméthylguanidine (TMG) et d'un léger excès d'allylacétate, il est important de travailler à basse température (aux alentours de -20°C) et à une concentration de 0,4 mmol/mL pour éviter les dimérisations et améliorer les rendements et les énantiosélectivités. Dans ces conditions, la transformation du β -cétoester **241** en β -céto-allyl **242** a été réalisée avec un très bon rendement de 87 % et un excès énantiomérique de 82 %.

¹⁹⁰ Trost, B. M.; Schroeder, G. M. *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 6759-6760.

¹⁹¹ Trost, B. M.; Pissot-Soldermann, C.; Chen, I.; Schroeder, G. M. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 4480-4481.

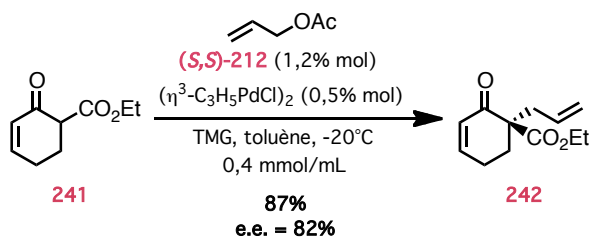


Schéma 60 : Conditions optimisées

II.2.3. Augmentation de l'excès énantiomérique par recristallisation

Il est connu que l'amplification de l'excès énantiométrique, peut survenir lors d'un changement d'état comme la cristallisation. Une autre stratégie pour améliorer les valeurs de e.e. consiste donc à former un composé cristallin à partir de la molécule d'intérêt. Les recristallisations successives de ce conglomerat permettent d'enrichir en énantiomère majoritaire et d'atteindre d'excellentes valeurs d'excès énantiomériques. Il suffit ensuite de régénérer le produit de départ énantiomériquement enrichi.

II.2.3.1. Formation de semicarbazones

En 2005, dans l'une de ces publications, Stoltz a décrit une procédure d'augmentation de l'excès énantiométrique sur un substrat très proche de **232** (Schéma 61).¹⁹² En dissolvant le composé **248** dans un mélange de pyridine, de méthanol et d'eau, avec le semicarbazide **249**, il a obtenu la semicarbazone **250** avec un très bon rendement de 84 %. Deux recristallisations successives dans un mélange éthanol/eau, puis la libération de la cétone **248** en milieu acide, lui ont permis d'augmenter l'excès énantiométrique de 87 % à 98 %.

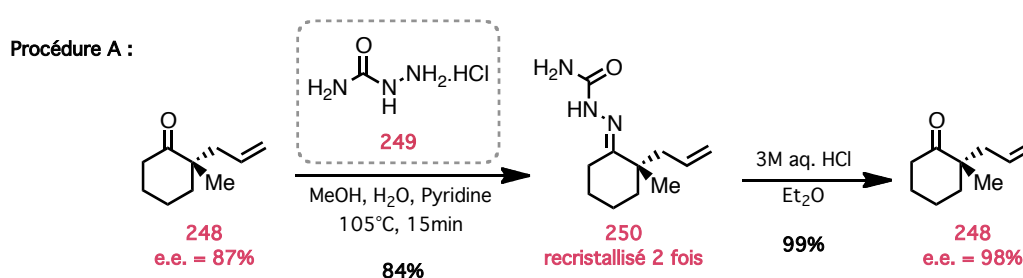


Schéma 61 : Procédure d'augmentation de l'excès énantiométrique de Stoltz

Pour former la semicarbazone, une autre méthode a aussi été décrite sur des β -cétoesters comme **251**.¹⁹³ Elle consiste à faire réagir la cétone **251** avec le semicarbazide **249** dans du méthanol contenant de l'acétate de sodium ou le semicarbazide **252** dans du THF (Schéma 62).

¹⁹² Mohr, J. T.; Behenna, D. C.; Harned, A. M.; Stoltz, B. M. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 6924-6927.

¹⁹³ Attanasi, O. A.; De Crescentini, L.; Favi, G.; Filippone, P.; Golobic, A.; Lillini, S.; Mantellini, F. *Synlett* **2006**, *17*, 2735-2738.

Procédure B :

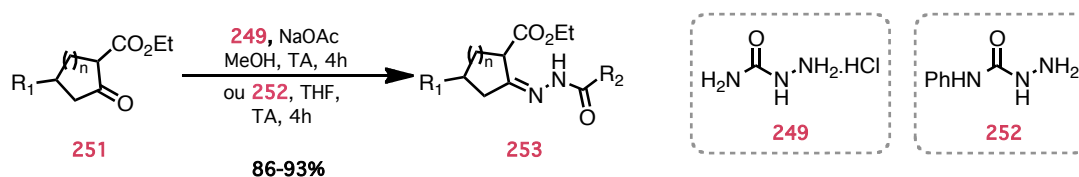


Schéma 62 : Formation de semicarbazones selon Attanasi

Ces procédures de formation des semicarbazones (procédures A ou B) puis d'augmentation de l'excès énantiomérique ont été entreprises sur les composés **232** et **242** (Schéma 63). Les produits issus de la réaction de Tsuji-Trost ont donc été engagés dans des réactions avec les semicarbazides, **249** ou **252**, pour former respectivement les semicarbazones **254** et **255** qui peuvent alors être recristallisés successivement jusqu'à obtenir de très bons excès énantiomériques (Tableau 15).

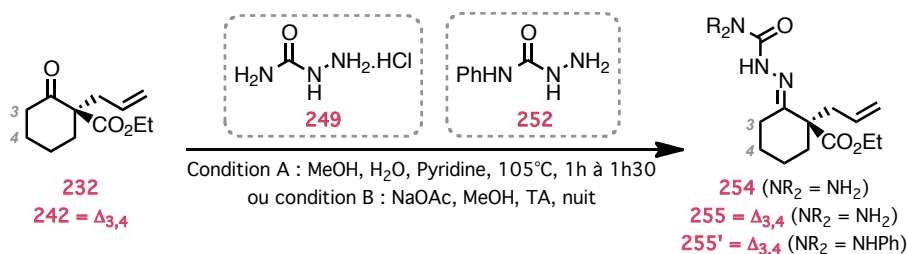


Schéma 63 : Formation des semicarbazones

SUBSTRAT DE DÉPART	SEMI-CARBAZIDE	PRODUIT FORMÉ	CONDI-TIONS	RDT BRUT (%)	E.E. INITIAL (%)	RDT RECRIST (%)	E.E. RECRIST (%)
1	249	(±)- 254	A	30	0	50	0 (a)
2 232	249	254	A	-	84	90 (15) (e),(f)	94 (96) (g)
3	249	(±)- 255	A	55	0	84	0 (a)
4	249	255	A	42	78	26 (40) (f)	97 (99) (g)
5	252	255'	A	- (b)	-	-	-
6 242	249	255	B	27 (c)	78	-	-
7	249	255	B(d)	10	78	-	-

(a) : expériences réalisées sur un composé racémique

(b) : dégradations observées

(c) : conversion de 10%

(d) : ajout de tamis 4Å

(e) : rendement déterminé par rapport à la quantité de 232

(f) : rendement de la 2^{ème} recristallisation entre parenthèses

(g) : excès énantiomérique après deux recristallisations entre parenthèses

Tableau 15 : Résultats personnels sur les augmentations d'excès énantiomériques

Dans un premier temps, les expériences ont été conduites sur des substrats racémiques afin d'obtenir des références HPLC des semicarbazones **254** et **255** (entrées 1 et 3). Les conditions réactionnelles de Stoltz (conditions A : Pyr., MeOH, H₂O, 105°C) ont conduit à de modestes rendements, respectivement 30 % et 55 %. Des essais de recristallisation ont tout de même été entrepris. Après dissolution de la semicarbazone **254** dans un mélange H₂O/EtOH (80/20), puis refroidissement à température ambiante, le produit recristallisé a été obtenu avec un rendement modeste de 50 % (entrée 1). En revanche, la recristallisation de la semicarbazone **255** a été plus efficace, donnant 84 % du produit attendu (entrée 3).

À partir des composés **232** et **242** issus des réactions de Tsuji-Trost, le même travail a été réalisé (entrée 2 et 4). Le cycle saturé **232** avec 84 % d'excès énantiomérique initial, conduit à la semicarbazone **254** avec un bon rendement de 90 % et un excellent excès énantiomérique de 94 % après la première recristallisation (entrée 2). La seconde, réalisée dans un mélange H₂O/EtOH (65/35), a permis d'améliorer l'excès, mais aux dépens du rendement. La même stratégie appliquée au cycle insaturé **242**, d'excès énantiomérique initial de 78 %, a permis d'obtenir la semicarbazone avec d'excellents excès énantiomériques de 97 et 99 % (entrée 4). Malheureusement, les rendements de formation du composé **255** et des recristallisations successives sont assez faibles. D'autres tentatives avec des temps de réactions plus longs ou des températures réactionnelles plus élevées, n'ont pas permis d'améliorer ces résultats. L'utilisation d'une autre source de semicarbazide, comme **252**, a conduit à la dégradation du produit de départ (entrée 5).

L'emploi du second protocole (condition B : NaOAc, MeOH) pour accéder aux composés **254** et **255**, a conduit à des résultats mitigés. En effet, sur le cycle insaturé **242**, les rendements en semicarbazones se sont révélés très faibles (27 % dans le méthanol, entrée 6). L'utilisation d'éthanol ou l'ajout de tamis moléculaire n'ont pas permis d'améliorer les résultats (entrée 7).

Dans les conditions B, la réaction sur le composé saturé **232** a conduit à un résultat tout à fait inattendu. Après formation de la semicarbazone **254**, il semblerait qu'une réaction intramoléculaire ait lieu entre les fonctions amine et ester éthylique, et conduise au composé **256** avec un rendement purifié de 69 % (Schéma 64). Ce réarrangement n'a jamais été observé dans les conditions A.

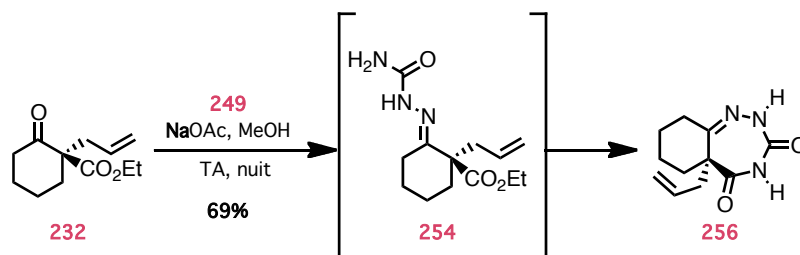
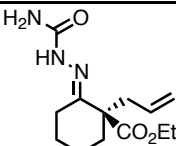
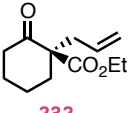
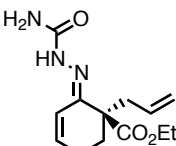
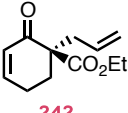


Schéma 64 : Réaction intramoléculaire observée pendant la formation de la semicarbazone **254**

II.2.3.2. Hydrolyses des semicarbazones

Cette stratégie d'augmentation de l'excès énantiomérique n'est intéressante que s'il est possible de récupérer la cétone désirée en fin de procédé. Comme nous l'avons déjà vu, Stoltz et son équipe ont fait réagir la semicarbazone **250** avec de l'acide chlorhydrique dans de l'éther diéthylique pour restituer la cétone **248** avec un rendement de 98 % (Schéma 61). Ces conditions réactionnelles, appliquées au substrat **254**, n'ont donné qu'un faible rendement isolé en cétone **232** tandis que le composé **255** n'a pas réagi (Tableau 16, entrées 1 et 3). L'augmentation du temps de réaction (entrées 2 et 4) a permis de retrouver les cétones **232** et **242** avec de bons taux de conversions. Les rendements isolés restant très faibles. Malgré l'élévation de la température à 40 ou 75°C (entrées 5 et 6), la conversion de la semicarbazone **255** en cétone **242** n'a pas donné de meilleurs résultats, le produit de départ se dégradant. D'autres conditions d'hydrolyse de la semicarbazone **255** (SiO₂, KMnO₄ ; H₃PO₄ ; Amberlyst), n'ont pas permis d'améliorer ces résultats (entrées 7, 8 et 9).

	SUBSTRAT	PRODUIT	CONDITIONS	CONVERSION ^(a) (%)	RENDEMENT ^(b) (%)
1	 254	 232	HCl 3N, Et ₂ O, 2h, TA	12	-
2			HCl 3N, MTBE, nuit, TA	100	22
3	 255	 242	HCl 3N, Et ₂ O, 2h, TA	0	-
4			HCl 3N, Et ₂ O, 24h, TA	70	14
5			HCl 3N, Et ₂ O, nuit, 40°C	- (c)	-
6			HCl 3N, MTBE, nuit, 75°C	- (c)	14
7			SiO ₂ , KMnO ₄	-	-
8			H ₃ PO ₄ 95%, 95°C	-	-
9			Amberlyst 15H, acétone, eau, TA, 1 semaine	80	19

(a) : déterminé par RMN ¹H du brut réactionnel

(b) : rendement isolé

(c) : dégradation du produit

Tableau 16 : Hydrolyse des semicarbazones

Étant donné les difficultés rencontrées lors de l'hydrolyse des semicarbazones et des faibles rendements isolés, nous n'avons pas poursuivi nos investigations.

II.2.4. Motif cyclohexénone : Confirmation de la configuration absolue obtenue après AAA

Dans l'optique de définir avec certitude la configuration absolue du céto-allyl **242** obtenu après l'AAA, nous avons réduit l'énone cyclique **242** en cétone **232** (Schéma 65). Même si le modèle simplifié indique que l'emploi du ligand (*S,S*)-**212**, pendant l'AAA du composé **241**, fournit l'énantiomère *R* du céto-allyl **242**, nous avons préféré vérifier cette hypothèse. En préparant la cétone **232** à partir du cétoester **231**, nous avons obtenu le céto-allyl **232** dont la configuration absolue a déjà été déterminée par l'équipe de Trost. La comparaison des résultats HPLC et des pouvoirs rotatoires est alors possible.

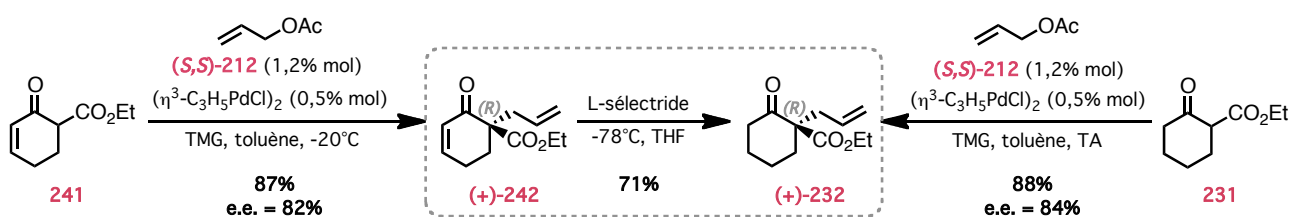


Schéma 65 : Réduction de l'énone **242** en cétone **232**

Ainsi, l'emploi de L-sélectride, a permis d'isoler la cétone **232** avec un très bon rendement de 71 %.¹⁹⁴ La comparaison du profil HPLC et du pouvoir rotatoire du céto-allyl **232** issu de la réduction (e.e. = 82 %, $\alpha_D = +106.4$) avec le même céto-allyl **232** obtenu par une réaction de Tsuji- Trost à partir de **231** ((*S,S*)-**212**, e.e. = 84 %, $\alpha_D = +105.7$) nous a permis d'en déduire que l'énantiomère majoritaire, formé pendant l'AAA du cétoester **241**, avait la configuration absolue (*R*).¹⁸⁷

II. 3. Synthèse de spiroimines modèles

II.3.1. Cible n°1 : Spiroimines porteuses de la fonction alcool

II.3.1.1. Séquence d'hydroboration/oxydation

Une fois le centre quaternaire créé, la fonctionnalisation de l'allyl est devenue notre nouvelle priorité. Pour y parvenir, nous avons eu l'idée de réaliser une étape d'hydroboration/oxydation afin de transformer la chaîne allyl du β -cétoester **257** en fonction alcool (Schéma 66).

¹⁹⁴ (a) Raucher, S.; Gustavson, L. M.; Stenkamp, R. E. *J. Org. Chem.* **1987**, 52, 2760-2762. (b) Fortunato, J. M.; Ganem, B. *J. Org. Chem.* **1976**, 41, 2194-2200.

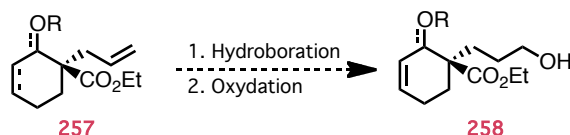


Schéma 66 : Hydroboration/oxydation de l'allyl de la cyclohexénone

La réaction d'hydroboration, développée par Brown, consiste à additionner un organoborane sur une double ou triple liaison carbone-carbone.^{195,196} Ce procédé est très régiosélectif et stéréospécifique puisque le bore se lie toujours sur le carbone le moins substitué et que l'addition de l'hydrure se fait toujours en *syn*, de manière à obtenir le produit *anti*-Markovnikoff (Schéma 67).

D'un point de vue mécanistique, le bore de configuration électronique $1s^2 2s^2 2p^1$ possède trois électrons dans sa couche de valence et une orbitale p vacante, ce qui le rend déficient en électrons. Celui-ci va donc s'additionner de manière concertée sur l'alcène en passant par un état de transition à quatre centres. La formation de la liaison C-B précède la formation de la liaison C-H ce qui crée un système partiellement chargé.

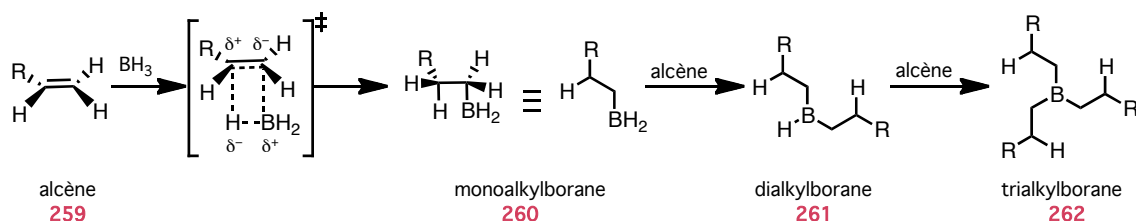


Schéma 67 : Mécanisme général de l'hydroboration développée par Brown

L'organoborane résultant est un intermédiaire très utilisé en synthèse organique. On peut par la suite l'oxyder en un groupe hydroxyle¹⁹⁷ ou le transformer en halogène¹⁹⁸ ou en amine.¹⁹⁹ D'autre part, les complexes de métaux de transition peuvent catalyser ce type de réaction et augmenter de façon significative le taux de conversion, la chimio-, la régio- ou la diastéréosélectivité.

Pour transformer l'organoborane **262** en alcool primaire **267**, la présence d'un oxydant, comme le perborate de sodium ou le peroxyde d'hydrogène, ainsi que celle d'une base est primordiale (Schéma 68).

¹⁹⁵ Brown, H. C.; Subba Rao, B. C. *J. Am. Chem. Soc.* **1956**, 78, 5694-5695.

¹⁹⁶ Brown, H. C.; Subba Rao, B. C. *J. Org. Chem.* **1957**, 22, 1136-1137.

¹⁹⁷ Liu, X.; Cook, J. M. *Org. Lett.* **2001**, 3, 4023-4026.

¹⁹⁸ Hara, S.; Guan, T.; Yoshida, M. *Org. Lett.* **2006**, 8, 2639-2641.

¹⁹⁹ Cheng, Q.; Kiyota, H.; Yamaguchi, M.; Horiguchi, T.; Oritani, T. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2003**, 13, 1075-1077.

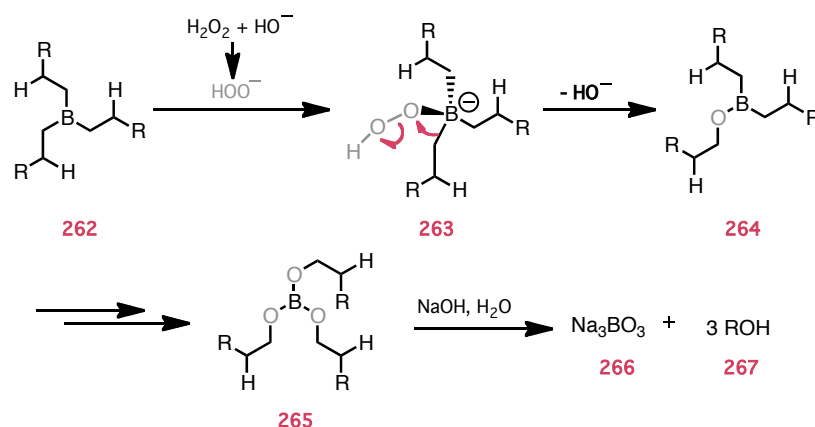
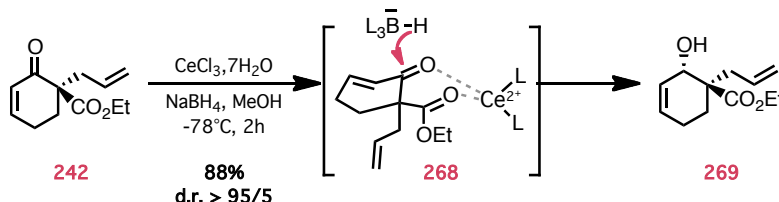


Schéma 68 : Mécanisme général d'oxydation d'un organoborane

II.3.1.1.1. Essais sur les cycles insaturés

La réaction d'hydroboration/oxydation n'est pas un procédé chimiosélectif. En effet, sur un substrat tel que **242**, l'organoborane peut interagir avec la chaîne allyl, mais aussi avec la fonction énone. La cétone **242** a donc d'abord été réduite en alcool allylique **269** dans les conditions de Luche, ce qui a permis l'obtention d'un seul diastéréoisomère de configuration relative *anti*.²⁰⁰ La complexation du cérium avec les deux fonctions carbonyles bloque la face α du composé **242** (Schéma 69). L'hydrure attaque ainsi la face la moins encombrée et la réaction conduit au *trans*-hydroxy-ester **269**.

Schéma 69 : Réduction de Luche de la cyclohexènone **242**

La configuration relative du carbone asymétrique portant la fonction alcool a pu être déterminée grâce à l'analyse de la bande de vibration en IR du carbonyle de la fonction ester. D'après les observations de Snider, les β -hydroxy-esters de configuration relative *trans* présentent deux pics d'intensité équivalente, caractéristiques du carbonyle libre et du carbonyle lié par liaison hydrogène. En revanche, avec les *cis*- β -hydroxy-esters, la bande du carbonyle libre semble beaucoup moins intense que celle du carbonyle lié par liaison hydrogène. Expérimentalement, nos deux pics à 1719 et 1713 cm^{-1} d'intensités relativement similaires sont donc caractéristiques des β -hydroxy-esters de configuration relative *trans*.²⁰¹

²⁰⁰ Fraga, C. A. M.; Teixeira, L. H. P.; S. Menezes, C. M.; Sant'Anna, C. M. R.; Ramos, M. C. K. V.; Aquino Neto, F. R.; Barreiro, E. J. *Tetrahedron* **2004**, 60, 2745-2755.

²⁰¹ (a) Zhou, Q., Snider, B. B. *J. Org. Chem.* **2008**, 73, 8049-8056. (b) Castells, J.; Palau, J. *Chem. Soc.* **1964**, 4938-4941.

Différents groupes protecteurs sur l'alcool ont alors été utilisés pour donner les composés **270**, **271** et **272** (Schéma 70). Certaines de ces réactions n'ont été faites qu'une seule fois ; les rendements pourraient donc certainement être améliorés.

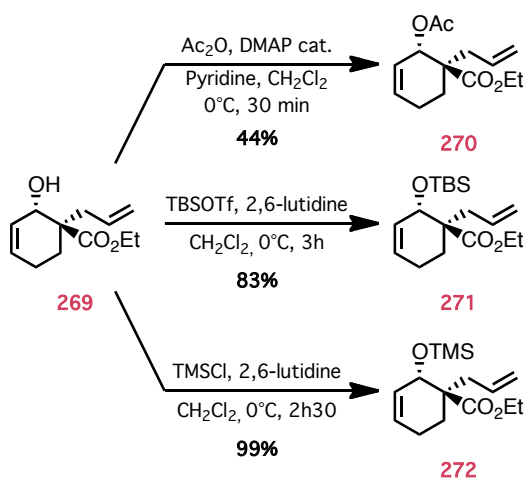


Schéma 70 : Protection de l'alcool secondaire

Pour réaliser les essais d'hydroboration/oxydation, plusieurs organoboranes ont été utilisés : $\text{BH}_3\cdot\text{THF}$,^{202,203} $\text{BH}_3\cdot\text{SMc}_2$ ²⁰⁴ ou encore le 9-BBN ;^{205,206,207,208} l'oxydant employé étant le perborate de sodium ou le peroxyde d'hydrogène (Tableau 17).

ENTRÉE	SUBSTRAT	ORGANOBORANE	OXYDANT	PRODUIT	RENDEMENT (%)
1		$\text{BH}_3\cdot\text{THF}$ ou 9-BBN	H_2O_2 30% ou $\text{NaBO}_3\cdot 4\text{H}_2\text{O}$	-	-
2	271	$\text{BH}_3\cdot\text{SMc}_2$	$\text{NaBO}_3\cdot 4\text{H}_2\text{O}$		26
3		$\text{BH}_3\cdot\text{THF}$ ou $\text{BH}_3\cdot\text{SMc}_2$	H_2O_2 30% ou $\text{NaBO}_3\cdot 4\text{H}_2\text{O}$	-	-
4	272	$\text{BH}_3\cdot\text{SMc}_2$	$\text{NaBO}_3\cdot 4\text{H}_2\text{O}$		16 (à 45°C)

Tableau 17 : Hydroboration/Oxydation sur les alcools allyliques protégés

²⁰² Kabalka, G. W.; Maddox, J. T.; Shoup, T.; Bowers, K. R. *Org. Synth.* **1998**, 9, 522.

²⁰³ Ando, K.; Yasuda, K.; Tomioka, K.; Koga, K. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1994**, 277-282.

²⁰⁴ Abiko, A. *Org. Synth.* **2004**, 10, 273.

²⁰⁵ Luo, Z.; Peplowski, K.; Sulikowski, G. A. *Org. Lett.* **2007**, 9, 5051-5054.

²⁰⁶ Jahn, U.; Hartmann, P.; Kaasalainen, E. *Org. Lett.* **2003**, 6, 257-260.

²⁰⁷ Trost, B. M.; Schroeder, G. M. *Chem. Eur. J.* **2005**, 11, 174-184.

²⁰⁸ Carlson, B. A.; Brown, H. C. *Org. Synth.* **1998**, 6, 137.

Ces résultats nous montrent tout d'abord, que la protection par un groupement acétate ne permet pas d'isoler l'alcool désiré car il se dégrade (entrée 3). En revanche, avec les composés silylés comme **271** et **272**, les alcools **273** et **274** ont pu être isolés mais avec de faibles rendements (entrées 2 et 4). Le choix de l'organoborane semble important car le 9-BBN, très encombrant n'a pas permis de convertir le substrat **271** (entrée 1) alors que $\text{BH}_3\cdot\text{SMe}_2$ conduit à l'alcool **273** avec un rendement modeste de 26% (entrée 2). L'absence de résultat avec $\text{BH}_3\cdot\text{THF}$ vient peut-être du manque de stabilité de ce complexe.

La faible réactivité de la chaîne allyl paraît surprenante d'autant plus que des essais supplémentaires sur des substrats sans l'insaturation cyclique ont fourni de très bons résultats.

II.3.1.1.2. Essais sur des substrats sans insaturation endocyclique

Dans un premier temps, nos essais se sont orientés sur l'emploi du disiamylborane, qui a la particularité de réagir avec l'alcène puis de réduire stéréosélectivement la fonction cétone de l'intermédiaire **232** (cf I.6.4.). Cet organoborane encombré a été préparé à partir de $\text{BH}_3\cdot\text{THF}$ ou de $\text{BH}_3\cdot\text{SMe}_2$ ^{209,210} puis mis en réaction avec le cétoester **232** (Tableau 17, entrée 1).

ENTRÉE	SUBSTRAT	ORGANOBORANE	OXYDANT	PRODUIT	RENDEMENT (%)
1			$\text{NaBO}_3\cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ou H_2O_2 30%	-	-
2	232	$\text{BH}_3\cdot\text{THF}$	$\text{NaBO}_3\cdot 4\text{H}_2\text{O}$		85 235 d.r. = 80/20
3		$\text{BH}_3\cdot\text{SMe}_2$	$\text{NaBO}_3\cdot 4\text{H}_2\text{O}$		86 235 d.r. = 70/30
4		$\text{BH}_3\cdot\text{SMe}_2$	$\text{NaBO}_3\cdot 4\text{H}_2\text{O}$		44 277 d.r. = 70/30

(a) : préparé à partir de $\text{BH}_3\cdot\text{THF}$ ou $\text{BH}_3\cdot\text{SMe}_2$

(b) : obtenu dans les conditions de Luche

Tableau 18 : Hydroboration/Oxydation sur des substrats sans insaturation endo-cyclique

²⁰⁹ Kono, H.; Hooz, J. *Org. Synth.* **1988**, 6, 919.

²¹⁰ Leopold, E. *J. Org. Synth.* **1990**, 7, 258.

L'utilisation de disiamylborane et d'oxydant tel que $\text{NaBO}_3 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ou H_2O_2 30 % (entrée 1), n'a pas permis de transformer l'alcène **232** en **235** comme décrit par Trost. En revanche, avec $\text{BH}_3 \cdot \text{THF}$ et $\text{NaBO}_3 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (entrée 2), le diol **235** a été obtenu avec un bon rendement de 85 % et un rapport diastéréoisomérique de 80/20.¹⁸⁷ Ce résultat est reproductible lorsque l'on utilise le substrat **275** (d.r. 70/30), préparé par réduction de la cétone **232** dans les conditions de Luche. On isole alors le diol **235** avec un rapport diastéréoisomérique de 70/30 (entrée 3). La séquence d'hydroboration/oxydation a ensuite été réalisée sur le substrat **276** dont l'alcool a été protégé par un groupement TBS (entrée 4). Bien que le rendement isolé en **277** ne soit que de 44 %, il reste supérieur à celui observé avec le substrat comportant la double liaison endo-cyclique **271** (Tableau 17, entrée 2).

II.3.1.1.3. Hydroboration catalysée par le rhodium

La fonction allyl du motif cyclohexénone n'étant que très peu réactive vis-à-vis des réactions d'hydroboration et d'oxydation, de nouveaux essais ont été réalisés grâce à une méthode utilisant le catalyseur de Wilkinson **278** (Schéma 71).²¹¹ D'un point de vue mécanistique, après dissociation d'un ligand PPh_3 , l'addition oxydante du catécholborane **280** permet d'obtenir le complexe **281**. L'insertion de l'oléfine **282** dans la liaison Rh-H du complexe **281** puis l'élimination réductrice permet de libérer le borane **285** et de régénérer l'espèce active **279**.

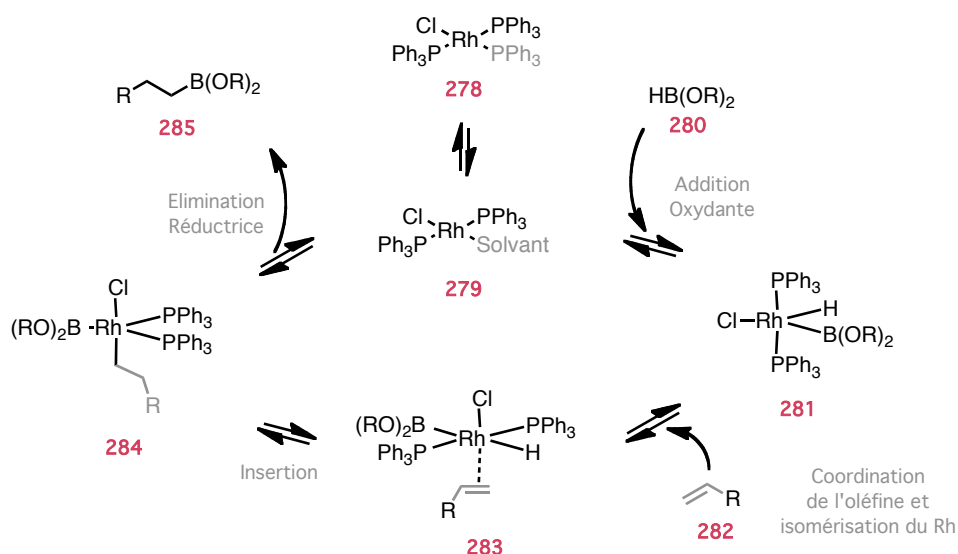
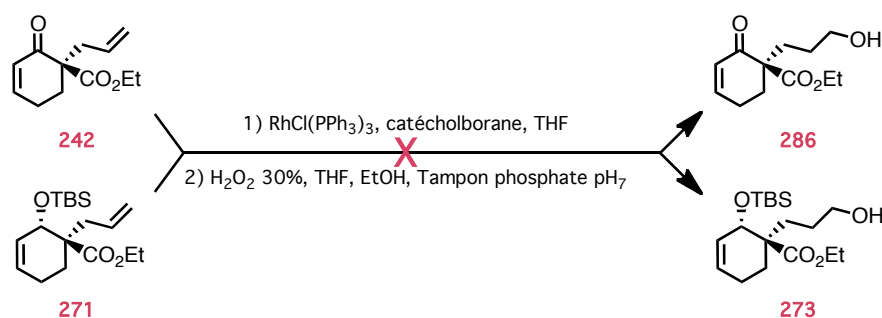


Schéma 71 : Mécanisme d'hydroboration catalysée par le Rh^{III}

Cette réaction a été testée sur l'énone **242** et sur l'alcool allylique protégé **271**, mais sans grand succès (Schéma 72). L'hypothèse d'une complexation possible entre le catalyseur et la fonction énone a été envisagée mais vite réfutée. En effet, la molécule silylée **271**, n'a pas donné de meilleurs résultats.

²¹¹ Barry, M. T.; Robert, N. B.; Jiayi, X. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, 45, 3109-3112.

Schéma 72 : Réaction d'hydroboration catalysée par le rhodium Rh⁽¹⁾

II.3.1.2. Séquence métathèse croisée/oxydation

Face à la faible réactivité de la chaîne allyl, incorporée sur nos substrats, des recherches bibliographiques ont montré que Nicolaou a eu un problème similaire lors de la synthèse totale de la platensimycin.^{212,213,214} La faible réactivité de l'alcène terminal, présent sur un cycle de type cyclohexénone, envers l'hydroboration l'a conduit à choisir une voie alternative. Celle-ci met en jeu une métathèse croisée entre l'alcène **287** et le vinylpinacolboronate **288** en présence du catalyseur de Grubbs II **289**, suivie d'une oxydation en aldéhyde **291** par l'oxyde de triméthylamine (Schéma 73).

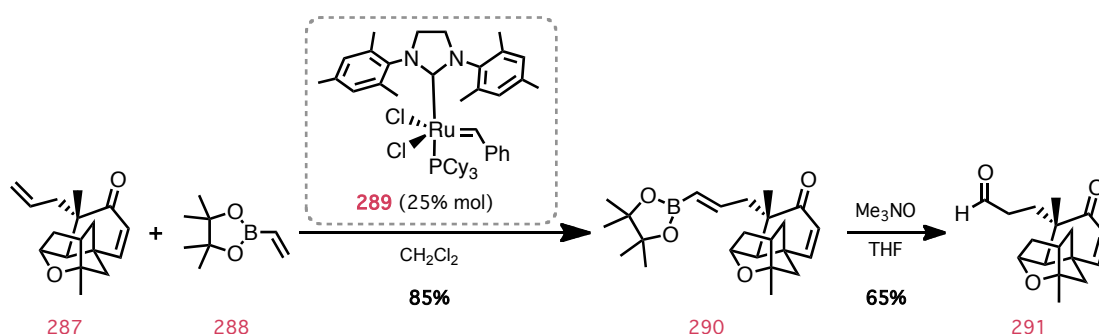


Schéma 73 : Métathèse croisée et oxydation utilisées par Nicolaou

La métathèse d'oléfine consiste en une redistribution des doubles liaisons C-C grâce à une catalyse par un métal de transition. Il existe plusieurs types de réaction :²¹⁵

- ROMP : ring-opening metathesis polymerization
- RCM : ring-closing metathesis
- ADMET : acyclic diene metathesis polymerisation
- ROM : ring-opening metathesis
- CM ou XMET : cross-metathesis

²¹² Nicolaou, K. C.; Tang, Y.; Wang, J.; Stepan, A. F.; Li, A.; Montero, A. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 14850-14851.

²¹³ Nicolaou, K. C.; Stepan, A. F.; Lister, T.; Li, A.; Montero, A.; Tria, G. S.; Turner, C. I.; Tang, Y.; Wang, J.; Denton, R. M.; Edmonds, D. J. *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 13110-13119.

²¹⁴ Nicolaou, K. C.; Li, A.; Edmonds, D. J. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 7086-7090.

²¹⁵ Grubbs, R. H.; Chang, S. *Tetrahedron* **1998**, *54*, 4413-4450.

Un essor important a vu le jour ces dernières années grâce à la mise au point de nouveaux catalyseurs hautement actifs et tolérants d'un grand nombre de groupes fonctionnels. Grubbs a conduit d'intenses recherches sur les complexes de ruthénium carbéniques pour tenter de proposer un mécanisme à ces réactions (Schéma 74).^{216,217} De nombreuses applications en synthèse totale ont déjà vu le jour. Beaucoup d'entre elles consistent à faire des RCM pour créer les macrocycles de molécules naturelles.²¹⁸ Toutefois, l'utilisation de la CM en tant qu'alternative à l'hydroboration sur la platensymicin est un très bel exemple des autres utilités de la métathèse.

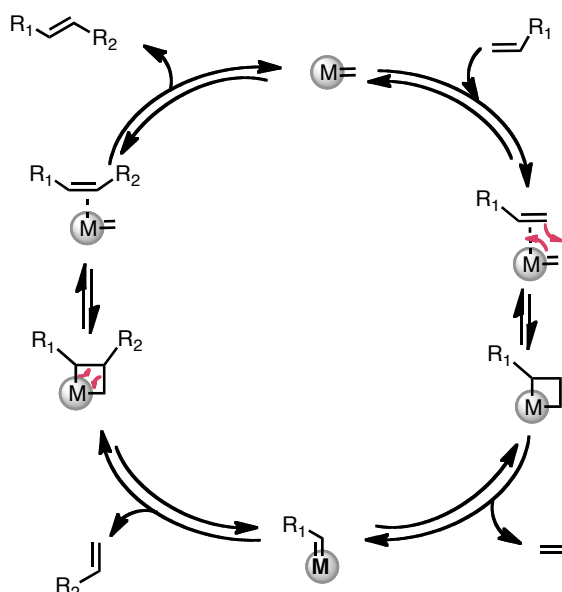


Schéma 74 : Mécanisme de la métathèse

L'application de la métathèse croisée entre la fonction allyl de nos substrats et l'ester pinacolique de l'acide vinylboronique **288** a demandé beaucoup d'optimisation. Dans un premier temps, les essais ont été réalisés sur l'éther silylé **271**. Quel que soit le catalyseur (Grubbs II ou Hoveyda-Grubbs II), le solvant (CH_2Cl_2 ou toluène), la température (40°C , 80°C ou reflux), ou la durée de la réaction (entre 3h et 2 jours), aucune conversion du produit de départ n'a été observée. La réactivité du substrat étant déjà faible, nous avons émis l'hypothèse que la taille du groupe protecteur pouvait conduire à une gêne stérique et empêcher l'approche du complexe de ruthénium.

Dans un second temps, la réaction a été effectuée sur l'alcool allylique **269** beaucoup moins encombré. L'alcool **269** a été mis en solution dans du toluène distillé en présence du catalyseur de Grubbs II. Le produit de couplage désiré **292** a été obtenu avec un rendement de 70 %, mais nous avons aussi observé avec surprise la formation de l'énone **242**, résultant de l'oxydation de l'alcool allylique **269** (Schéma 75).

²¹⁶ Katz, T. J.; McGinnis, J. *J. Am. Chem. Soc.* **1975**, *97*, 1592-1594.

²¹⁷ Hérisson, P. J.; Chauvin, Y. *Die Makromolekulare Chemie* **1971**, *141*, 161-176.

²¹⁸ Smith, A. B.; Adams, C. M.; Kozmin, S. A.; Paone, D. V. *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 5925-5937.

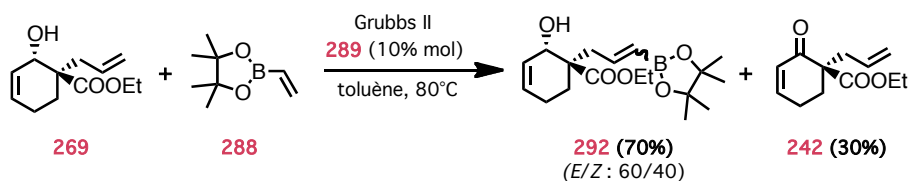


Schéma 75 : Métathèse croisée sur le substrat porteur de l'alcool allylique

Des réactions secondaires de ce genre ont déjà été observées et décrites dans la littérature.^{219,220} En effet, sur des molécules comportant un alcool allylique, la présence du catalyseur de Grubbs, peut entraîner une réaction d'isomérisation de la double liaison pour former un énoïl, lui-même en équilibre avec la forme cétone. Dans notre cas, seule l'oxydation en cétone semble avoir lieu, mais ceci a déjà été observé par le groupe de Tori.²²¹ Il précise d'ailleurs que pour les RCM et CM, les alcools allyliques ne sont pas des substrats de choix. Il est alors fortement recommandé de travailler sur les molécules protégées pour éviter toutes réactions secondaires. Cette solution n'étant pas envisageable dans notre cas, nous avons donc choisi de continuer nos travaux sur le substrat contenant la fonction énone **242**.

La réaction a tout d'abord été tentée avec le catalyseur de Grubbs II **289**. La molécule désirée a été obtenue avec des rendements de l'ordre de 40 à 50 %. L'ajout d'isopropoxide de titane pour éviter la complexation du catalyseur avec les deux carbonyles n'a pas permis d'améliorer les rendements.^{222,223} C'est en utilisant le catalyseur d'Hoveyda-Grubbs II **293**, que les meilleurs résultats ont été obtenus, en prenant soin de protéger le milieu réactionnel de la lumière pour éviter toutes dégradations du complexe de ruthénium (Schéma 76). Le produit désiré a ainsi été obtenu avec un rendement de 90 % sous la forme d'un mélange d'isomères *E/Z* en proportion 80/20.

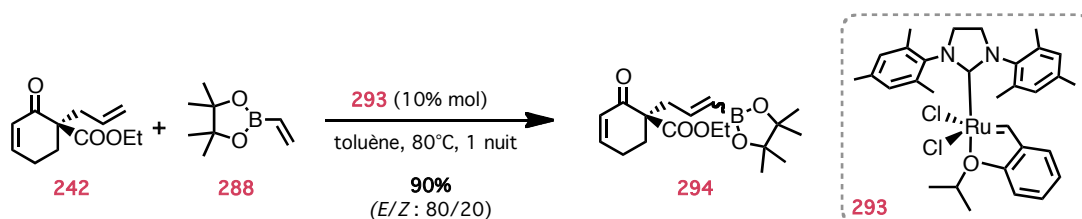


Schéma 76 : Métathèse croisée sur le substrat porteur de l'énone

II.3.1.3. Clivage oxydatif et réduction du céto-aldéhyde

Tout comme dans la publication de Nicolaou, le mélange des deux isomères (*Z*) et (*E*), issu de la métathèse croisée chimiosélective, a été engagé dans une étape de clivage oxydatif par l'oxyde de triméthylamine.

²¹⁹ Bäckvall, J.-E.; Andreasson, U. *Tetrahedron Lett.* **1993**, *34*, 5459-5462.

²²⁰ McGrath, D. V.; Grubbs, R. H. *Organometallics* **1994**, *13*, 224-235.

²²¹ Nakashima, K.; Okamoto, S.; Sono, M.; Tori, M. *Molecules* **2004**, *9*, 541-549.

²²² Ghosh, A. K.; Cappiello, J.; Shin, D. *Tetrahedron Lett.* **1998**, *39*, 4651-4654.

²²³ Fürstner, A.; Langemann, K. *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 9130-9136.

Avec l'alcool allylique **292**, la conversion en aldéhyde **295** a bien eu lieu, mais celui-ci a réagi immédiatement sur la fonction alcool pour créer l'hémi-acétal **296** avec un bon rendement de 90 % (Schéma 77).

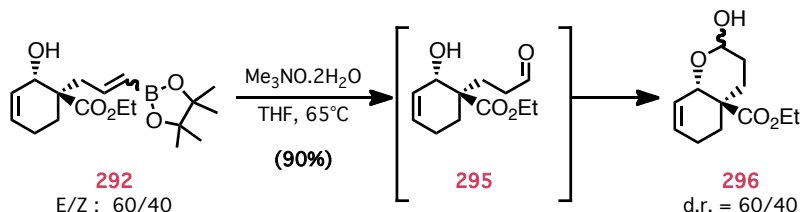


Schéma 77 : Clivage oxydatif sur le substrat porteur de l'alcool allylique

Pour éviter cette cyclisation, l'expérience a alors été réalisée sur l'énone **294**. En présence de *N*-oxyde triméthylamine, nous avons pu isoler l'aldéhyde désiré **297** après purification sur colonne de silice avec un rendement de 44 % (Schéma 78). Au cours de la synthèse de l'aldéhyde **297** sur plus grande échelle, les résultats se sont révélés très peu reproductibles. Nous avons trouvé que l'emploi de NaBO_3 permettait d'obtenir très proprement le produit désiré **297** avec un rendement brut de 90 %.

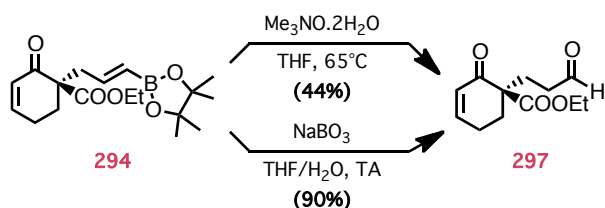


Schéma 78 : Clivage oxydatif sur le substrat porteur de l'énone

Pour nous assurer qu'aucune perte d'excès énantiomérique n'avait lieu durant cette réaction, nous avons transformé l'aldéhyde **297** en acétal **299**. L'aldéhyde **297** a alors été engagé dans une étape de protection par le 2-éthyl-2-méthyl-1,3-dioxolane **298** pour synthétiser l'acétal **299** plus stable, dans les conditions HPLC, que l'aldéhyde correspondant (Schéma 79). La même séquence réactionnelle a été reproduite en version racémique et les résultats HPLC ont montré que l'excès énantiomérique était bien maintenu à 79 %.

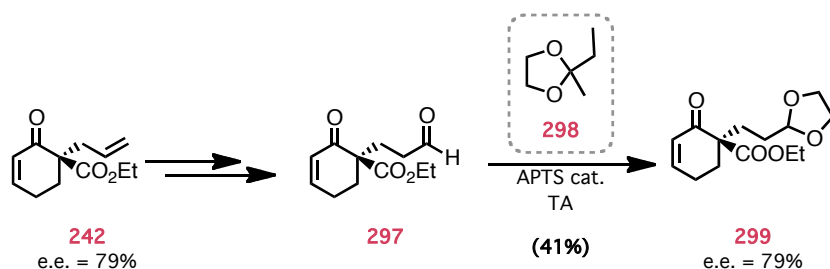


Schéma 79 : Conservation de l'excès énantiomérique après le clivage oxydatif

L'exposition du céto-aldéhyde **297** aux conditions de Luche ne permet pas l'obtention du diol **301** car après un traitement acide, un mélange 50/50 de l'hémi-acétal **296** a été obtenu (Schéma 80). En effet, la dissolution de **297** dans le méthanol, suivi de l'addition de $\text{CeCl}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ à température ambiante a probablement hydraté l'aldéhyde **297**.²²⁴ La solution a alors été refroidie à -78°C et l'ajout de borohydrure de sodium a conduit à la formation de l'intermédiaire **300** (d.r. > 95/5). Ce dernier a alors été transformé en hémi-acétal **296**, au cours du traitement acide. Une alternative a été trouvée en réduisant l'aldéhyde **297**, avec seulement 0,5 équivalent de NaBH_4 à -78°C , de manière à former l'alcool **286**. Après l'ajout du chlorure de cérium, la température a été fixée à -50°C pour permettre une dissolution complète. Puis elle a de nouveau été abaissée à -78°C et un équivalent de NaBH_4 a été ajouté. Cette réaction séquentielle a donc permis d'obtenir le diol **301** avec un rendement de 74 % et un rapport diastéréoisomérique de 90/10.

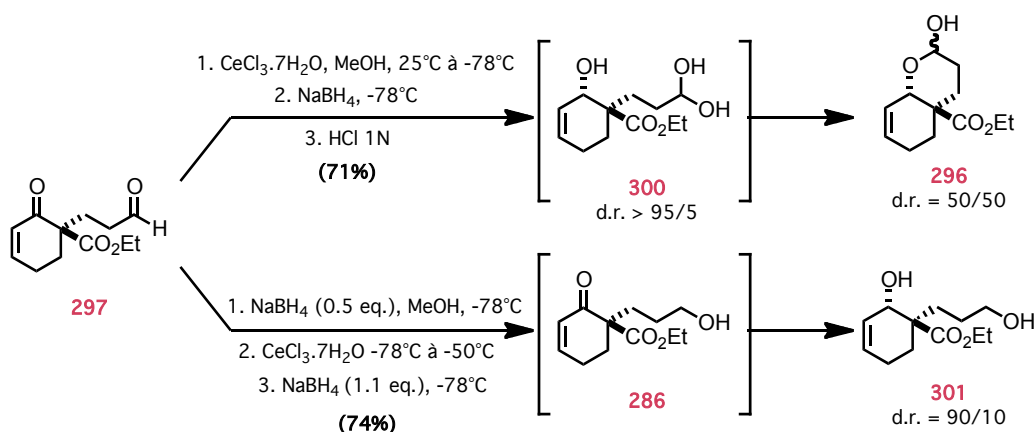


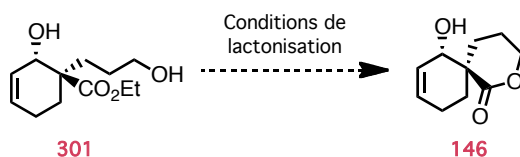
Schéma 80 : Réduction du céto-aldéhyde **297**

II.3.1.4. Obtention de la spirolactone

II.3.1.4.1 Sur le substrat porteur de l'insaturation **301**

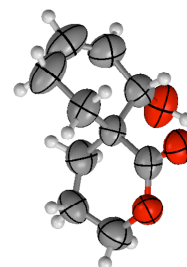
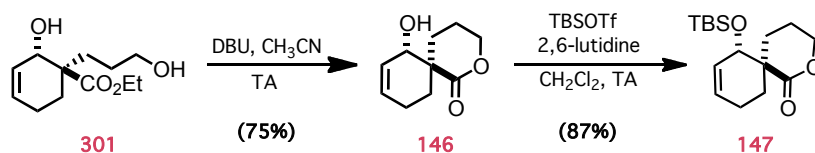
Le motif spirolactone **146** est un intermédiaire important de la séquence réactionnelle car il permet d'établir un lien entre l'approche basée sur les AAA et les précédents travaux du laboratoire avec la réaction de Birch alkylante asymétrique. Pour l'obtenir, différentes conditions de lactonisation ont été testées (Schéma 81). La première consistait à saponifier l'ester éthylique **301** et à former la lactone en utilisant par exemple le sel de Mukaiyama. Cette séquence avait d'ailleurs été utilisée avec succès lors de l'approche utilisant la réaction de Birch.

²²⁴ Luche, J-L; Gemal, A. L. *J. Am. Chem. Soc.* **1979**, *101*, 5848-5849.

**Schéma 81 : Réaction de lactonisation**

Dans notre cas, tous les essais de saponification de la fonction ester ont échoué. Plusieurs substrats de départ, protégés ou non (**242**, **271**, ou **301**), ont été testés dans différents systèmes de solvants et en présence de différentes bases (NaOH, LiOH, Ba(OH)₂). Malheureusement, à chaque fois, aucune évolution n'a été observée.

Des essais de lactonisation directe entre l'alcool primaire et l'ester éthylique ont alors été entrepris (Schéma 82). La cyclisation en milieu basique (DBU, CH₃CN) du diol **301** a été réalisée à température ambiante et la spirolactone **146** a alors été isolée avec un rendement de 75 %. La protection de l'alcool secondaire par un groupement *tert*-butylsilyl a conduit à la spirolactone **147**, intermédiaire commun entre les deux approches développées au laboratoire (AAA et Birch alkylante). De plus, une étude de diffraction des rayons-X a été réalisée sur la spirolactone **146** confirmant ainsi la stéréochimie de l'alcool obtenu après la réduction de Luche (Figure 30).

**Figure 30 : Rayons-X de la spirolactone 146****Schéma 82 : Obtention des spirolactones**

II.3.1.4.2 Sur le substrat saturé **235**

La lactonisation du diol **235** (d.r. 80/20) a aussi été étudiée (Schéma 83). L'utilisation de l'acide *p*-toluène sulfonique n'a pas permis de convertir le diol **235** en lactone **302** (Tableau 19, entrée 1). En revanche, l'utilisation de diisopropylamine permet, au moins en partie, de former la spirolactone **302** comme l'atteste les analyses RMN ¹H du brut réactionnel (entrée 2). Le meilleur résultat a été obtenu en chauffant une nuit à 80°C en présence de DBU (entrée 3). La conversion a été totale et la spirolactone **302** a été obtenue sous la forme de deux diastéréoisomères en proportion 80/20. Celle-ci n'a malheureusement pas pu être isolée à cause de sa faible stabilité sur la silice.

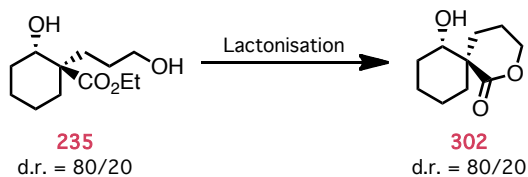


Schéma 83 : Lactonisation sur le diol saturé 235

ENTRÉE	CONDITIONS	DURÉE (h)	TEMPÉRATURE	CONVERSION (%)
1	PPTS, toluène	15	60°C	0
2	<i>i</i> -Pr ₂ NEt, méthanol	36	TA	15
3	DBU, acétonitrile	15	80°C	100

Tableau 19 : Essais de lactonisation

II.3.1.5. Synthèse des spiroimines et comparaison des approches

La suite et la fin de la synthèse du motif spiroimine **150** est équivalente à celle développée par le Dr. Thierry Jousseume en version racémique (Schéma 84). La synthèse a toutefois été optimisée avec l'aide d'Elvina Barre et du Dr. Laurent Chabaud.

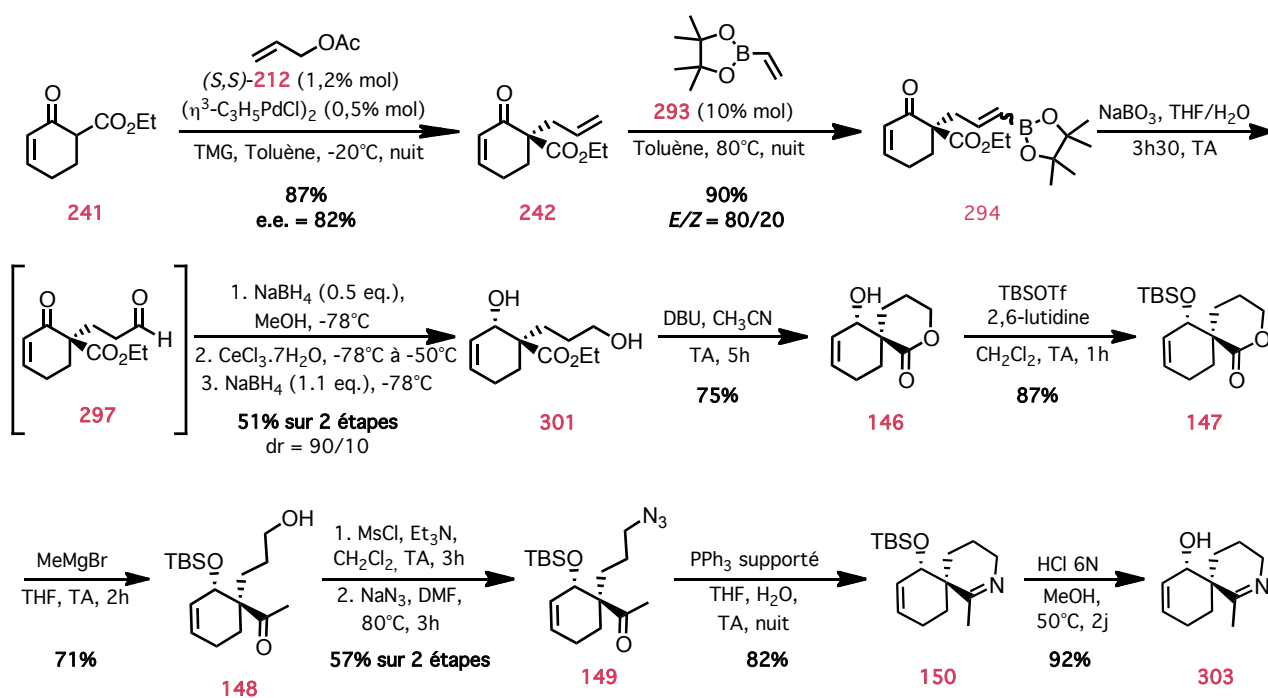


Schéma 84 : Récapitulatif de la synthèse énantiosélective de la spiroimine 303

La lactone **147** a été ouverte par le bromure de méthylmagnésium pour obtenir la méthylcétone **148**. Après méthylation et substitution par l'azoture de sodium, le composé **149** a été obtenu avec un rendement de 57 % sur deux étapes. Il a ensuite été engagé dans la réaction de Staudinger en présence de PPh_3 supportée pour donner la spiroimine protégée **150** énantiomériquement enrichie. Enfin, en vue des tests biologiques, l'imine **150** a été déprotégée pour former l'alcool **303**. Cette réaction effectuée en milieu acide fort atteste de la stabilité de la spiroimine. En résumé, la spiroimine **150** a été synthétisée en 10 étapes avec un rendement global de 8,0 % (Schéma 84).

Pour comparaison, l'obtention du motif **150** en version racémique par le Dr. Thierry Jousseau demandait déjà 12 étapes de synthèse. Si l'on avait fait le choix d'utiliser la réaction Birch alkylante asymétrique pour obtenir notre substrat en version énantiosélective, il aurait fallu encore 7 étapes supplémentaires pour préparer, insérer puis cliver l'auxiliaire chiral. L'AAA est par conséquent une voie d'accès bien plus rapide aux motifs spiroimines que la réaction de Birch.

II.3.2. Cible n°2 : Spiroimine porteuse d'une fonction acétal

II.3.2.1. Approche par hydroboration/oxydation et lactonisation

L'intérêt de cette partie est de réaliser la synthèse asymétrique de la spiroimine **130**, dont chaque énantiomère est en cours de co-cristallisation avec l'ACHBP. Une synthèse asymétrique de **130** permettrait ainsi de connaître la configuration absolue de chaque énantiomère. De plus, la synthèse de **239** a aussi été envisagée pour comparer les activités biologiques avec son analogue saturé **130**. La voie rétrosynthétique s'appuie toujours sur la création du centre quaternaire par la réaction de Tsuji-Trost pour former les cétoesters **232** ou **242** (Schéma 85). Les spiroimines **130** et **239** proviendraient respectivement de la transformation des lactones **304** et **305**, elles-mêmes synthétisées après les étapes d'hydroboration, d'oxydation et de lactonisation des acétals **306** et **307**.

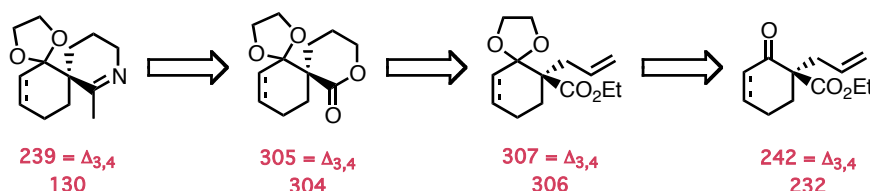


Schéma 85 : Voie rétrosynthétique d'accès aux spiroimines porteuses de la fonction acétal

Le composé **232** issu de l'AAA a été protégé, par catalyse acide, avec de l'éthylène glycol pour former l'acétal **306** avec un bon rendement de 86 % (Schéma 86). Par la suite, la fonctionnalisation de la chaîne allyl par hydroboration/oxydation a donné l'alcool **308**. Celui-ci se dégrade sur silice et a été directement engagé dans l'étape de lactonisation.

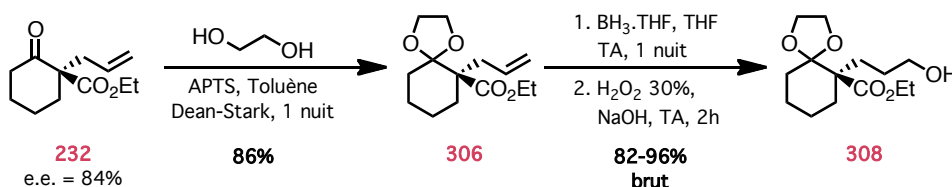


Schéma 86 : Hydroboration et oxydation sur les substrats saturés protégés par un acétal

Malgré de nombreuses tentatives, la lactonisation n'a jamais pu être observée car en milieu acide (APTS, PPTS) ou en milieu basique (*i*-Pr₂NH, DBU) le produit de départ **308** est récupéré intact ou dégradé. La gêne stérique imposée par l'acétal ainsi que la structure tridimensionnelle du spirocycle empêche probablement la cyclisation. Au vue de ces résultats cette stratégie n'a pas été appliquée au substrat insaturé, mais une alternative utilisant la métathèse croisée et le clivage oxydatif, et ne passant pas par une lactone, a été envisagée.

II.3.2.2. Approche par métathèse croisée/oxydation

Une nouvelle approche a donc été mise en place. Celle-ci se base, tout d'abord, sur la fonctionnalisation de la chaîne allyl des cétoesters **306** et **307**, de façon à insérer la fonction azote. Puis la transformation de l'ester éthylique en méthyl-cétone et la fonctionnalisation de la chaîne allyl, permettraient d'obtenir les azido-cétones **309** et **310** essentielles pour la cyclisation de Staudinger finale.

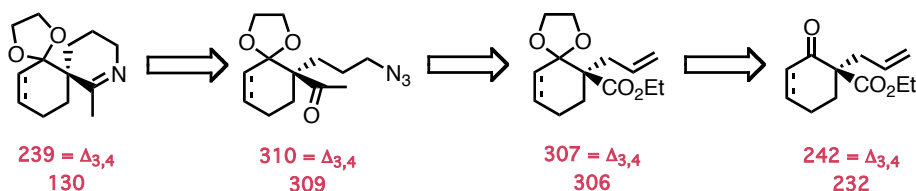


Schéma 87 : Deuxième voie d'accès aux spiroimines protégées par un acétal

Ce travail a été réalisé sur le substrat cyclique **242** comportant l'insaturation (Schéma 88). Le céto-allyl **242**, résultant de la réaction de Tsuji-Trost, a tout d'abord été engagé dans l'étape de protection de la cétone par l'éthylène glycol pour donner l'acétal **307**. La réaction de métathèse croisée entre l'allyl **307** et l'ester pinacolique de l'acide vinylboronique suivie de l'oxydation par l'oxyde de triméthylamine a permis de synthétiser l'aldéhyde **312**. La réduction par le borohydrure de sodium a fourni l'alcool **313**, puis après tosylation et substitution nucléophile avec l'azoture de sodium, le composé **315** a été obtenu avec un rendement correct.

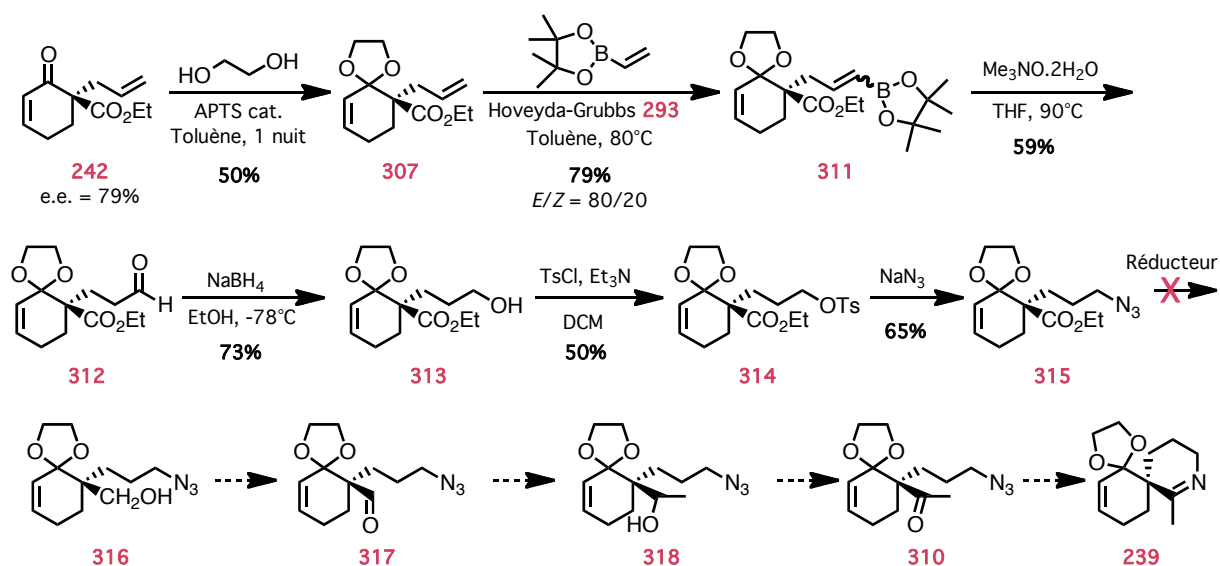


Schéma 88 : Approche par la métathèse croisée et l'oxydation sur les substrats protégés par la fonction acétal

À ce jour, il ne nous a pas été possible de réduire sélectivement l'ester éthylique en alcool primaire **316** par le borohydrure de lithium. Le chauffage du milieu réactionnel à 45°C ou l'augmentation des quantités de LiCl et de NaBH₄ n'ont pas permis d'améliorer ce résultat. L'accès à la spiroimine **239** par cette voie semble donc compromis.

En perspective, il serait intéressant de former la méthylcétone au début de la synthèse (Schéma 89). La réduction de l'ester éthylique des molécules **306** et **307** se ferait avec LiAlH₄, dans un premier temps, pour pouvoir former après quelques étapes les méthylcétones **321** et **322** correspondantes. Puis la fonctionnalisation de la chaîne allyl, par métathèse croisée puis oxydation, serait étudiée dans un second temps pour former les azotures **309** et **310**. Il ne resterait alors qu'à réaliser la réaction de Staudinger pour obtenir les spiroimines **239** et **130** désirées.

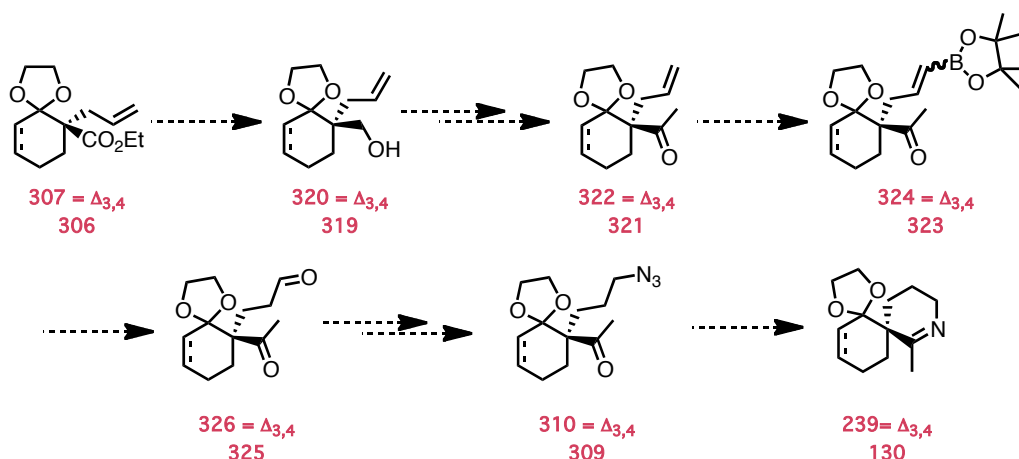


Schéma 89 : Perspectives d'accès aux spiroimines protégées par une fonction acétal

II. 4. Synthèse de spiroimines fonctionnalisées

II.4.1. Analyse rétrosynthétique

Jusqu'alors, l'alkylation allylique asymétrique nous a permis d'obtenir les cétoesters **232** et **242** avec de bons rendements et excès énantiomériques. Associés aux réactions de métathèse croisée et d'oxydation en aldéhyde, elle nous a même permis de préparer les spiroimines optiquement actives **150** et **303**. Dans la cadre de la synthèse totale de la GYM A, nous avons étudié des substrats plus fonctionnalisés qui permettraient d'introduire des substituants sur les carbones C7 et C9 du céto-allyl **329** et d'atteindre par la suite le fragment **120** (Schéma 90).

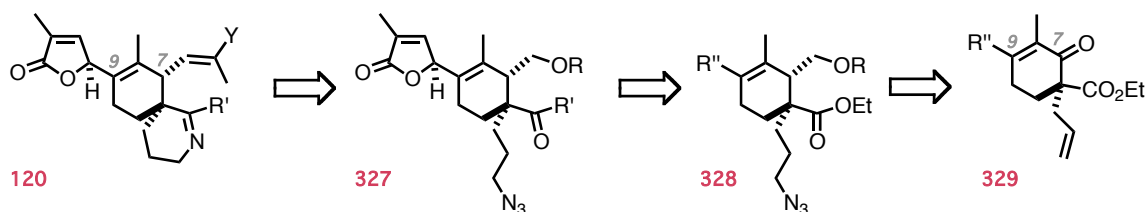


Schéma 90 : Rétrosynthèse pour les spiroimines fonctionnalisées

D'un point de vue rétrosynthétique, le fragment **120** pourrait être obtenu à partir de l'azido-cétone **327**, dans laquelle l'alcool protégé servirait de précurseur d'aldéhyde puis d'alcyne. Le buténolide pourrait être formé par une réaction d'aldolisation asymétrique avec un substrat où le groupement R' serait un précurseur d'aldéhyde (R' : CH₂OMOM ou (CH(OCH₂)₂)).¹⁴⁹ D'un autre côté, il pourrait être préparé par l'addition d'un silyloxyfurane sur une cétone cyclique qui proviendrait de l'éther d'énol **328** (R'' = OMe). Enfin, l'alcool **328** serait obtenu par homologation de la cétone **329**.

II.4.2. Réactions de Tsuji-Trost sur des β -cétoesters fonctionnalisés

II.4.2.1 Préparation des synthons de départ

Quatre substrats, dont la fonctionnalisation diffère en position 4 de l'énone, ont été préparés et chacune de leur préparation va être rapidement discutée (Schéma 91). Toutes ces synthèses ont été élaborées à partir de la dicétone symétrique **330**.

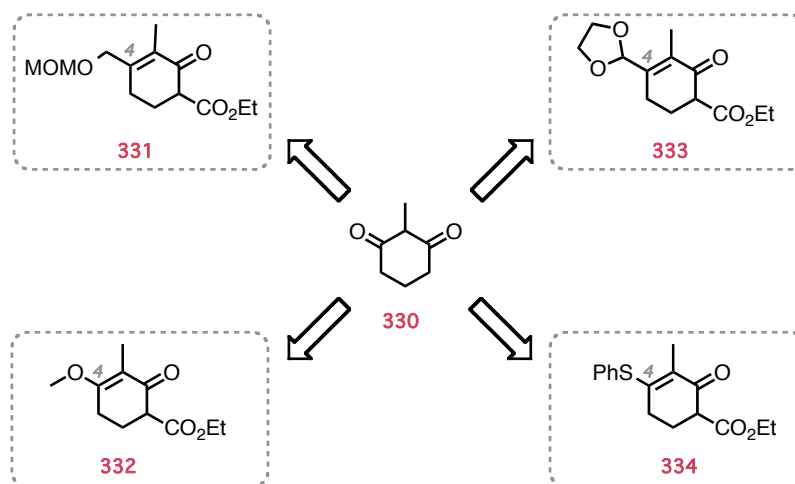


Schéma 91 : Préparation des synthons de départ

Il a été possible d'accéder très rapidement à l'éther d'énol **335**.²²⁵ En une seule étape, la déprotonation par le carbonate de potassium et la méthylation par le diméthylsulfate, a permis d'obtenir l'énone **335** avec un rendement quantitatif (Schéma 92). À partir de ce composé, il a été possible d'atteindre les substrats **339** et **340**.

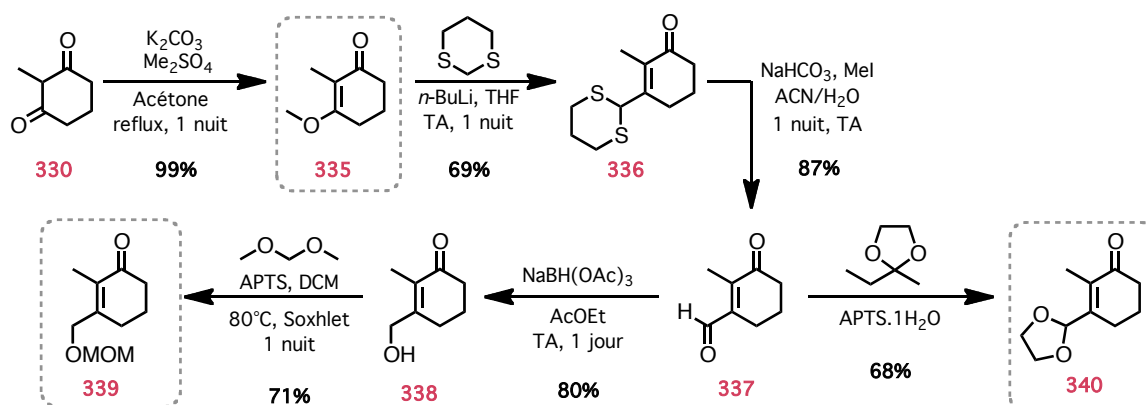


Schéma 92 : Synthèses des précurseurs fonctionnalisés par un groupement OMe, CH₂OMOM ou acétal

²²⁵ Katoh, N.; Nakahata, T.; Kuwahara, S. *Tetrahedron* **2008**, 64, 9073-9077.

L'inversion de l'énone **335** a été réalisée en présence de l'anion du 1,3-dithiane²²⁶ et la formation de l'aldéhyde **337** a été possible grâce à l'utilisation d'iodométhane et d'hydrogénocarbonate de sodium.²²⁷ La réduction chimiosélective de l'aldéhyde **337** en alcool **338** par le $\text{NaBH}(\text{OAc})_3$ a été réalisée très facilement dans l'acétate d'éthyle à température ambiante.²²⁸

Enfin, la protection de l'alcool **338** en **339** par le diméthoxyméthane, moins toxique que son homologue, le MOMCl,²²⁹ a été réalisée avec de bons rendements, grâce à un appareil de Soxhlet rempli de tamis moléculaire 4 Å capable d'éliminer totalement le méthanol libéré.²³⁰ Le dichlorométhane utilisé comme co-solvant permet la formation d'un azéotrope avec le méthanol dont le point d'ébullition est de 37,8°C sous pression atmosphérique. Le motif dioxolane du synthon **333** a été incorporé à partir de l'aldéhyde **337**, dissous dans l'éthylméthylidioxolane.²³¹ Après une nuit à température ambiante le composé désiré **340** a été obtenu avec un rendement de 68 %.

La dicétone **330** a également permis de former, en deux étapes, l'énone **341** substituée par un groupement thiophényle (Schéma 93). La première consiste à former un éther d'énol piégé par le chlorure de mésyle, puis la seconde réside en une substitution nucléophile du mésylate par le thiophénol. Cette réaction a permis d'isoler le thioéther d'énol **341** avec de bons rendements, même à l'échelle du gramme.²³²

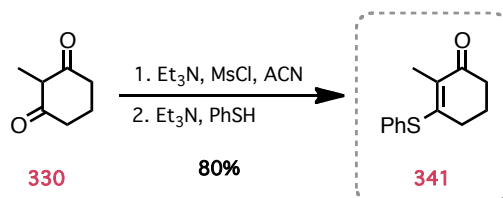


Schéma 93 : Formation d'un substrat substitué par le groupement thiophényle

Les étapes d'acylation ont été menées sur chacun des substrats de façon à obtenir les β -cétoesters **331**, **332**, **333** et **334**, précurseurs des réactions de Tsuji-Trost (Schéma 94).

²²⁶ Kuwahara, S.; Suzuki, K.; Hiramatsu, A. *Biosci. Biotech. Biochem.* **1992**, *56*, 1510-1511.

²²⁷ Saito, T.; Nakata, T.; *Org. Lett.* **2009**, *11*, 113-116.

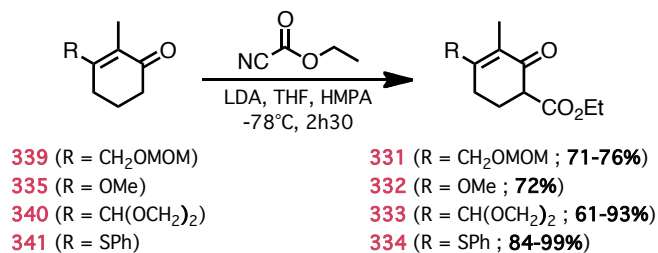
²²⁸ Lu, F.; Ralph, J. J. *J. Agric. Food Chem.*, **1998**, *46*, 1794-1796.

²²⁹ Snyder, S. A.; Sherwood, T. C.; Ross, A. G. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, *49*, 1-6.

²³⁰ (a) Yardley, J. P.; Fletcher, H. *Synthesis*, **1975**, 244. (b) Coutts, S. J.; Wallace, T. W. *Tetrahedron*, **1994**, *50*, 11755-11780.

²³¹ Ooi, T.; Miki, T.; Taniguchi, M.; Shiraishi, M.; Takeuchi, M.; Maruoka, K. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, *42*, 3796-3798.

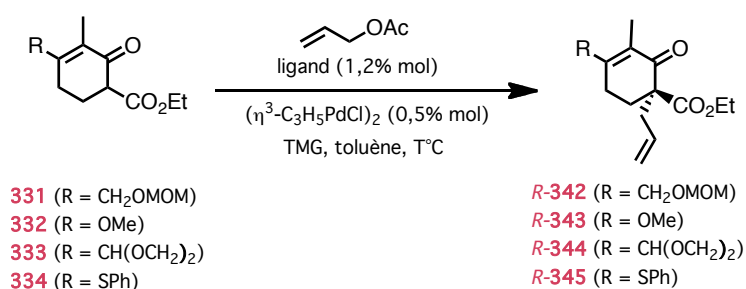
²³² Levine, S. R.; Krout, M. R.; Stoltz, B. M. *Org. Lett.* **2009**, *11*, 289-292.

**Schéma 94 : Acylation des cétones**

Les β-cétoesters **331**, **332**, **333** et **334** ont tous été obtenus après dissolution dans le THF et déprotonation des cétones correspondantes par la LDA. L'anion ainsi formé peut alors attaquer l'éthylcyanoformate pour donner les produits désirés.²³³ L'ajout d'HMPA dans le milieu réactionnel permet de rompre les agrégats de lithium et d'activer la position en α de la cétone pour obtenir les cétoesters avec de meilleurs rendements.²³⁴ Ceci s'est surtout révélé efficace pour le composé **339** dans lequel les protons CH₂OMOM sont relativement acides, ce qui conduit à des réactions secondaires.

II.4.2.2 Etape d'alkylation allylique asymétrique

Les ligands de Trost ont été de nouveau utilisés ici pour créer le centre quaternaire sur nos nouveaux β-cétoesters (Schéma 95). La configuration absolue, supposée des produits formés, s'appuie sur le modèle simplifié, détaillé en amont (cf. I.5.2.), qui précise que l'emploi d'un ligand DPPBA, comme **212**, de stéréochimie (*S,S*) confère la configuration *R* aux produits synthétisés. Ces réactions ont donc été réalisées en présence d'allyl acétate, de tétraméthylguanidine ainsi que d'une quantité catalytique du ligand de Trost et du dimère de chlorure d'allylpalladium, dans du toluène distillé sous atmosphère inerte.

**Schéma 95 : Alkylation allylique asymétrique des β-cétoesters fonctionnalisés**

²³³ Poulsen, T. B.; Bernardi, L.; Aleman, J.; Overgaard, J.; Jorgensen, K. A. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 441-449.

²³⁴ Mander, L. N.; Sethi, S. P. *Tetrahedron Lett.* **1983**, *24*, 5425-5428.

Les premiers essais réalisés sur le composé **331** à -20°C n'ont pas permis de convertir le substrat (Tableau 20, entrée 1). L'élévation de la température à 25°C a permis d'obtenir le composé allylé **342** avec un rendement de 50 % et un excès énantiomérique de 72 % (entrée 2). L'augmentation de la quantité de système catalytique n'a pas beaucoup amélioré le rendement (entrées 3 et 4) et l'utilisation du ligand **244** a donné de moins bons résultats qu'avec le ligand **212** (entrée 5). L'éther d'énol **332** et l'acétal **333** semblent peu réactifs dans les conditions d'allylation car les rendements restent très faibles (7-19 %) quelque soit la température (entrées 6, 7, 8 et 9). Seul le β -cétoester fonctionnalisé par un groupement thiophényle (**334**) se distingue particulièrement. À basse température, nous avons obtenu l'allyl **345** avec un rendement de 76 % et un excès énantiomérique de 83 %. Les travaux de fonctionnalisation du groupement carbonyle, qui suivent, ont donc été réalisés sur ce composé.

SUBSTRAT DE DÉPART	LIGAND	T°C (°C)	LIGAND (% mol)	PALLADIUM (% mol)	RDY (%)	E.E. (%)
1	(<i>S,S</i>)- 212	-20	1,2	0,5	0 (a)	-
2	(<i>S,S</i>)- 212	25	1,2	0,5	50	72
3	(<i>S,S</i>)- 212	25	4,8	2,0	53	62
4	(<i>S,S</i>)- 212	25	9,6	4,0	58	67
5	(<i>R,R</i>)- 244	25	4,8	2,0	28	63
6	(<i>S,S</i>)- 212	-20	1,2	0,5	0 (a)	-
7	(<i>S,S</i>)- 212	25	1,2	0,5	7	-
8	(<i>S,S</i>)- 212	-20	1,2	0,5	10	27
9	(<i>S,S</i>)- 212	25	1,2	0,5	19	-
10	(<i>S,S</i>)- 212	-20	1,2	0,5	76	83

(a) : aucune conversion

Tableau 20 : Essais d'AAA sur les β -cétoesters fonctionnalisés

II.4.3. Fonctionnalisation et réactivité de l'énone

Pour fonctionnaliser la cétone, nous avons tout d'abord tenté une réaction de Corey-Chaykovski sur l'énone **346**. La fonction aldéhyde ainsi formée pourra être successivement transformée en alcyne puis en iodure de vinyle. La transformation de la cétone, n'a encore fait l'objet d'aucune étude dans le laboratoire et contrôler la stéréochimie de ce nouveau centre asymétrique ne semble pas être une évidence.

II.4.3.1 Réaction de Corey-Chaykovski sur les énonnes **345** et **346**

La réaction de Corey-Chaykovski a été réalisée sur deux composés, l'éther d'énol **346** et le thioéther **345**. Du méthanolate de sodium, fraîchement préparé, en solution dans du méthanol distillé a permis la transformation du thioéther **345** en éther d'énol **346** (Schéma 96).²³⁵ Il est important de préciser qu'une trans-estérification a lieu simultanément et que des analyses HPLC ont montré que l'excès énantiomérique était conservé pendant cette étape.

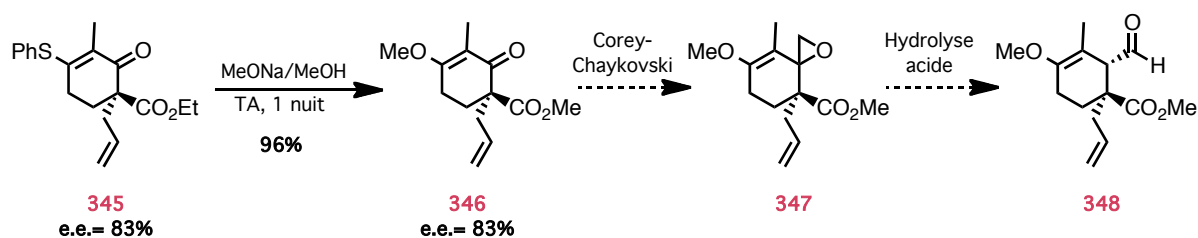


Schéma 96 : Stratégie utilisant la réaction de Corey-Chaykovski

Aucun des essais de réaction de Corey-Chaykovski réalisés sur l'éther d'énol **346** n'a été particulièrement convaincant. En effet, quelque soit la nature de la base (*n*-BuLi, LDA, NaH, *t*-BuOK), du réactif de Corey-Chaykovski (Me₃SOI, Me₃SI) ou du solvant (DMSO, DMF, THF), le plus souvent une grande partie de la masse engagée n'a pas été retrouvée. De plus, les spectres RMN ¹H des bruts réactionnels sont souvent complexes, montrant des mélanges de composés et une dégradation des produits.

Jusqu'à présent, il n'a donc pas été possible d'isoler l'aldéhyde **348**. Cependant, l'un de nos essais nous a permis d'isoler la lactone bicyclique **349** en très faible quantité. Malgré nos efforts, nous n'avons pas réussi à optimiser cette réaction (Schéma 97).

²³⁵ Desmaële, D.; D'angelo, J. *J. Org. Chem.* **1994** 59, 2292-2303.

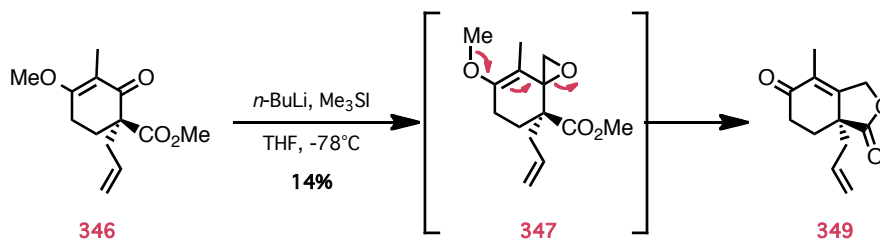


Schéma 97 : Formation de la lactone bicyclique

Des essais ont ensuite été réalisés sur le thioéther d'énol **345**. Bien que l'aldéhyde correspondant ait été observé par RMN ¹H du brut réactionnel, plusieurs autres produits inconnus se forment durant cette réaction. Nous avons donc choisi de moduler notre approche et de tester d'autres nucléophiles connus pour s'additionner sur des cétones cycliques, possédant un centre quaternaire en α.

II.4.3.2 Essais d'addition-1,2 et élimination

L'addition de l'anion du 1,3-dithiane sur l'énone **346**, nous permettrait d'atteindre l'alcène **351** après élimination de méthanol (Schéma 98).²²⁶ Après quelques transformations sur la chaîne allyl, une hydrogénation diastéréosélective par le catalyseur de Lindlar ou le nickel de Raney par exemple, pourrait nous permettre de contrôler les trois centres asymétriques adjacents de la cétone **352**. La déprotection du dithiane permettrait facilement de créer l'alcool protégé **328** (Schéma 90).

Après la mise en solution du 1,3-dithiane dans le THF, le butyllithium a été ajouté à 0°C et le milieu réactionnel a été remonté à température ambiante pendant 1h, de façon à préformer le nucléophile. L'ajout de l'énone **346** à 0°C et le maintien de la réaction à température ambiante n'a pas permis de convertir le produit de départ. Ni l'adduit **350**, ni le composé **351** n'ont pu être observés et l'énone **346** a toujours été récupérée intacte.

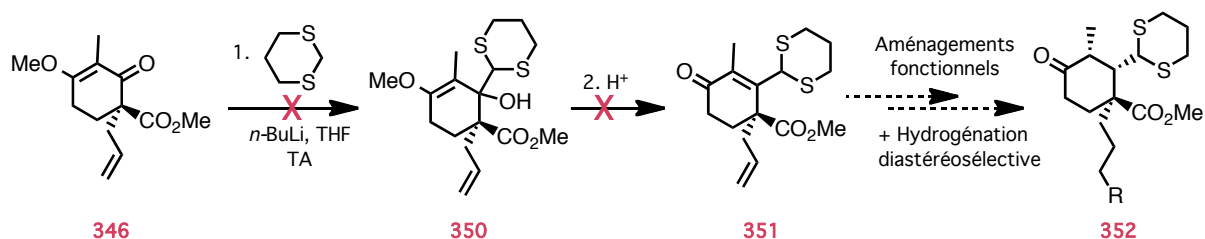


Schéma 98 : Fonctionnalisation du carbonyle de l'énone par addition de 1,3-dithiane

Pour vérifier que cet échec n'est pas simplement dû à la gêne stérique engendrée par la présence du centre quaternaire adjacent, l'addition d'un alcyne a été tentée. En effet, très récemment, une réaction similaire a été publiée, montrant que le centre quaternaire en α du β -cétoester n'était pas néfaste à l'addition du bromure de méthylmagnésium.²³⁶ Les mêmes conditions appliquées à l'énone **346** n'ont cependant pas permis de convertir le substrat (Schéma 99).

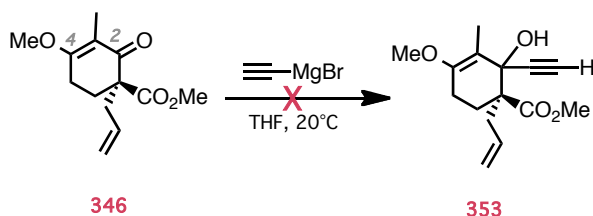


Schéma 99 : Addition d'alcyne

La présence du groupe méthoxy, à caractère donneur d'électrons, en position 4 de l'énone défavorise une éventuelle attaque nucléophile en position 2. La même réaction sur le composé thioéther **345** pourrait avoir une issue plus favorable car les doublets électroniques du soufre ne sont pas délocalisés avec l'énone comme peut l'être l'oxygène du groupement méthoxy.

III. Conclusion

Au cours de ce chapitre, nous avons vu que la réaction de Tsuji-Trost était un outil puissant pour la création du centre quaternaire de spiroimines optiquement actives. Elle nous a permis de créer le céto-allyl insaturé **342** avec un rendement 87 % et un excès énantiomérique de 82 %. Des essais de recrystallisations successives de la semicarbazone **255** ont bien permis d'améliorer l'excès énantiomérique mais aux dépens du rendement. De plus, il a été vérifié que l'emploi du ligand (*S,S*)-**212** conduisait bien à l'énantiomère *R* du céto-allyl **342**, conformément à la molécule naturelle.

Les difficultés de fonctionnalisation de la chaîne allyl par hydroboration/oxydation, nous ont conduit à une alternative astucieuse (Schéma 84). L'utilisation de la métathèse croisée avec l'ester pinacolique de l'acide vinyl boronique suivie de l'oxydation en aldéhyde **297** nous ont conduit à un substrat fonctionnalisé qui après double réduction et cyclisation en milieu basique, nous a fourni la spirolactone **146**. Après quelques aménagements fonctionnels, les spiroimines **150** et **303** ont pu être synthétisées de manière énantiosélective en 10 étapes. Cette approche nous a permis d'améliorer la synthèse de spiroimines par rapport à la réaction de Birch alkylante asymétrique et d'obtenir deux imines optiquement actives qui ont été testées pour leur activités biologiques.

²³⁶ Dukkerke, S.; Abbas, M.; Westermann, B. *Belstein J. Org. Chem.* **2011**, 7, 421-425.

Le même travail a été reproduit sur des composés protégés par une fonction acétal. Malheureusement, la lactonisation de l'alcool **308** s'est montrée impossible, probablement à cause de gênes stériques intrinsèques au système bicyclique. La seconde voie d'accès, passant par la fonctionnalisation de la chaîne allyl, par métathèse croisée et oxydation, puis par la réduction de l'ester éthylique n'a pas abouti (Schéma 88). La transformation de l'ester en méthylcétone, puis la fonctionnalisation de la chaîne allyl semble être une alternative plus prometteuse.

Finalement, l'optique de la synthèse totale de la GYM A **8a** nous a conduit à étudier des substrats plus fonctionnalisés. Les AAA réalisées sur ces substrats variés ont montré que le thioéther **334** donnait les meilleurs résultats. L'allyl **345** correspondant a ainsi pu être synthétisé sur plusieurs grammes avec un rendement de 73 % et un excès énantiomérique de 83 %. Les transformations fonctionnelles autour de ces substrats sont en cours d'étude, mais pour le moment, les réactions de Corey-Chaykovski ou les additions-1,2 n'ont pas donné de pistes sérieuses.

Chapitre 4 : Création du centre quaternaire du motif spiroimine par allylation décarboxylante asymétrique

Chapitre 4 : Création du centre quaternaire du motif spiroimine par allylation décarboxylante asymétrique

I. Rappels bibliographiques

I.1. Historique de la réaction et principaux avantages et inconvénients

Malgré tous les avantages associés à la chimie des énolates dans les allylations de Tsuji-Trost, une limitation majeure subsiste encore. Les substrats de départ ne doivent pas posséder plus d'un site à caractère acide, sous peine d'obtenir des mélanges complexes de produits allylés. Le cas échéant, une différence de pKa suffisamment importante doit exister entre les différents sites. Dans l'idéal, il serait donc préférable de ne pas avoir à préformer le nucléophile pour éviter la formation de sous-produits ou de faire en sorte que ces produits secondaires soient facilement éliminables.

Dans cet optique, les réactions d'allylations décarboxylantes (ADc)²³⁷ présentent l'avantage certain de ne libérer qu'un seul produit secondaire stœchiométrique : le dioxyde de carbone. En plus de n'être ni inflammable, ni toxique, le CO₂ peut être éliminé facilement. Cette libération *in situ* permet de former à la fois le nucléophile et l'électrophile, évitant ainsi l'étape fastidieuse de pré-formation du nucléophile. D'autre part, ces procédés nécessitent des conditions réactionnelles douces et sont connus pour être régiosélectifs.

Dès 1980, les équipes de Tsuji et de Saegusa ont étudié les réactions de décarboxylations de β -cétoesters allyliques. Ils ont développé des réactions catalysées par le palladium, pouvant convertir des équivalents d'énolates en cétones allylés correspondantes. Tsuji a d'ailleurs défini quatre classes de substrats pouvant être employés dans ce genre de transformations : les allyl énoles carbonates,²³⁸ les éthers d'énol silylés,²³⁹ les β -cétoesters²⁴⁰ et les acétates d'énol (Schéma 100).²⁴¹ Chacun de ces substrats permet de générer un centre quaternaire.

²³⁷ (a) Mohr, J. T.; Stoltz, B. M. *Chem. Asian J.* **2007**, *2*, 1476-1491. (b) Weaver, J. D.; Recio III, A.; Grenning, A. J.; Tunge, J. A. *Chem. Rev.* **2011**, *111*, 1846-1913.

²³⁸ (a) Tsuji, J.; Minami, I.; Shimizu, I. *Tetrahedron Lett.* **1983**, *24*, 1793-1796. (b) Seto, M. S.; Roizen, J. L.; Stoltz, B. M. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 6873-6876.

²³⁹ Tsuji, J.; Minami, I.; Shimizu, I. *Chem. Lett.* **1983**, 1325-1326.

²⁴⁰ (a) Shimizu, I.; Yamada, T.; Tsuji, J. *Tetrahedron Lett.* **1980**, *21*, 3199-3202. (b) Tsuda, T.; Chujo, Y.; Nishi, S. I.; Tawara, K.; Saegusa, T. *J. Am. Chem. Soc.* **1980**, *102*, 6381-6384.

²⁴¹ Tsuji, J.; Minami, I.; Shimizu, I. *Tetrahedron Lett.* **1983**, *24*, 4713-4714.

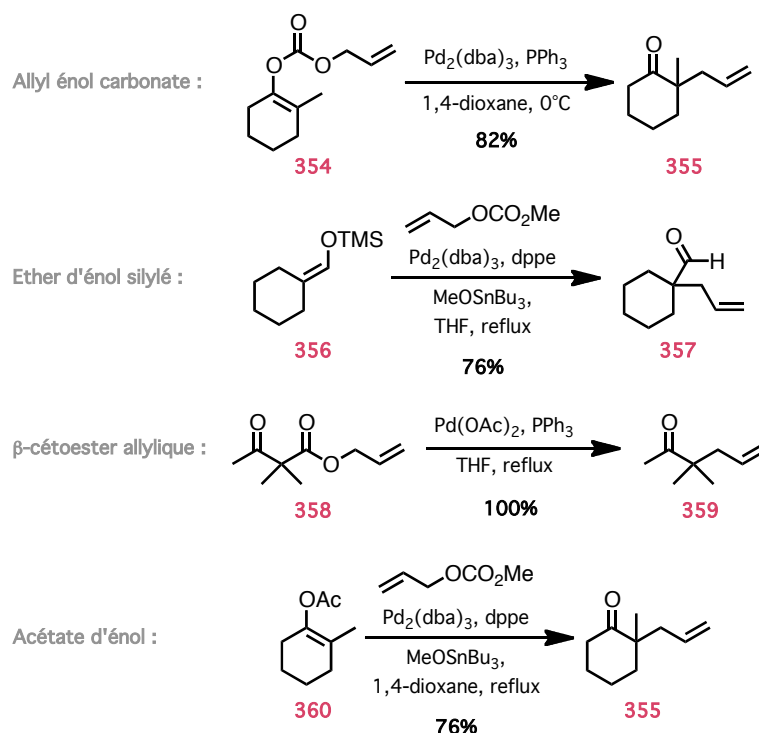


Schéma 100 : Réactions d'allylation de Tsuji

À l'époque, deux principales réactions secondaires à éviter avaient déjà été mises en évidence. En effet, les β -cétoesters porteurs d'un atome d'hydrogène en position α peuvent être sujet à une double allylation tandis que certains β -cétoesters α -substitués peuvent favoriser les réactions d'élimination et conduire à des produits finaux non allylés.

Malgré ces premières découvertes trente ans auparavant, ce n'est qu'en 2004 que la première variante asymétrique de la réaction d'ADc est apparue, lorsque Burger et Tunge ont pris le parti d'utiliser l'un des ligands de Trost pour catalyser les ADcs de β -cétoesters allylés.²⁴² Cette réaction énantiosélective est classée depuis comme une sous-catégorie des réactions de Tsuji-Trost.

I.2. Régiosélectivité de la réaction

Comme les autres réactions de Tsuji-Trost, les ADcs sont régiosélectives et forment, dans la plupart des cas, des produits linéaires (Schéma 101). En effet, les nucléophiles préfèrent attaquer l'intermédiaire π -allylpalladium du côté le moins encombré.^{237b} De ce fait, quelque soit le cétoester **361** ou **362**, le même intermédiaire **363** sera formé, conduisant exclusivement à l'allyl **364**.

²⁴² Burger, E. C.; Tunge, J. A. *Org. Lett.* **2004**, 6, 4113-4115.

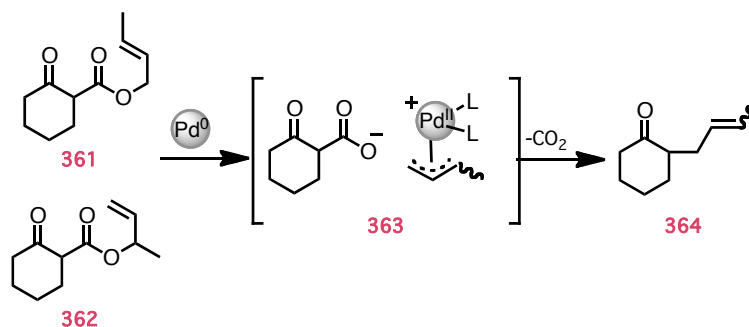


Schéma 101 : Régiosélectivité de l'attaque du nucléophile

De plus, contrairement aux méthodes traditionnelles, les réactions de décarboxylation ont la capacité de générer l'énolate de façon régiospécifique (Schéma 102). Concrètement, une fois que le palladium s'est lié à la chaîne allyl sur le substrat **367** et que le dioxyde de carbone a été éliminé, l'énolate formé ne s'isomérisse pas et celui-ci est piégé très rapidement par l'espèce d'allylpalladium électrophile pour donner la cétone **368**. En résumé, l'allylation aura donc lieu sur le carbone initialement porteur de l'ester allylique.

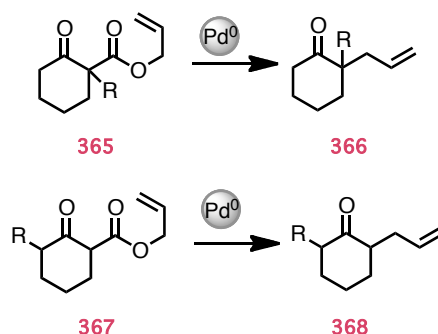


Schéma 102 : Régiosélectivité de la ADc

I.3. Allylations décarboxylantes asymétriques d'énolates catalysées par le palladium

Behenna et Stoltz et un peu plus tard l'équipe de Trost, ont montré qu'il était possible de contrôler la stéréosélectivité lors des ADcs. Chacun d'entre eux a mis au point une méthode efficace pour créer des centres quaternaires à partir d'allyl énoles carbonates ou de β -cétoesters.

1.3.1. À partir d'allyl énoles carbonates

1.3.1.1. Travaux de Stoltz

Les carbonates **369** ont été utilisés par Stoltz dans l'allylation décarboxylante asymétrique pour créer des cétones ayant un centre quaternaire en α . Les produits de départ ne sont pas toujours très stables, mais les difficultés de synthèse ont vite été récompensées par l'obtention de cétones allylées **370** avec de bons excès énantiomériques (Schéma 103).

Après la phase de test des différents ligands, l'équipe de Stoltz a choisi de travailler avec un ligand bidentate P/N particulièrement efficace en terme d'énantiosélectivité : la *tert*-butyl PHOX **210**.²⁴³ Les conditions douces et tolérantes d'un bon nombre de groupements fonctionnels, ont permis de créer, les cétones **370 a-c** possédant un carbone quaternaire, avec de bons rendements et de bons excès énantiomériques.²⁴⁴ Un point particulièrement intéressant est que beaucoup de solvants différents ont pu être employés avec des résultats équivalents : des solvants éthers (THF, 1,4-dioxane, Et₂O, MTBE), des solvants aromatiques (benzène, toluène) ou encore l'acétate d'éthyle.

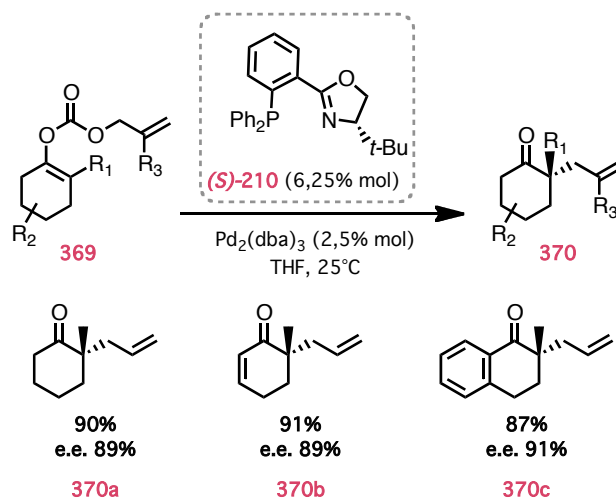


Schéma 103 : Méthode de Stoltz sur les allyl énoles carbonates

Au cours d'un screening de ligands pour optimiser l'ADc asymétrique sur le substrat **371**, Stoltz a montré que l'utilisation du ligand (*S*)-**372**, déficient en électrons, et d'un solvant apolaire, pouvait augmenter l'excès énantiomérique de la dicétone **373** de 28 % avec la (*S*)-*t*-BuPHOX à 84 % (Schéma 104).²⁴⁵ Les auteurs suggèrent que ces changements ont permis d'augmenter l'affinité entre le métal et l'énolate et que par conséquent l'excès énantiomérique a été amélioré.

²⁴³ (a) Helmchen, G.; Pflatz, A. *Acc. Chem. Res.* **2000**, 33, 336-345. (b) Williams, J. M. J. *Synlett* **1996**, 705-710.

²⁴⁴ Behenna, D. C.; Stoltz, B. M. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, 126, 15044-15045.

²⁴⁵ McDougal, N. Y.; Virgil, S. C.; Stoltz, B. M. *Synlett* **2010**, 1712-1716.

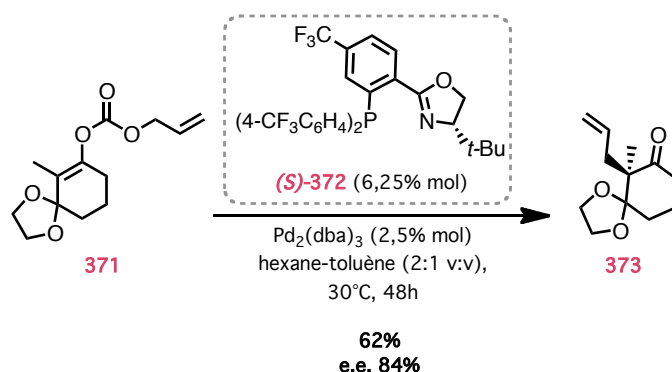


Schéma 104 : Utilisation d'un ligand électrodéficient dans l'ADc asymétrique

1.3.1.2. Travaux de Trost

De son côté, la stratégie de Trost s'est appuyée sur l'utilisation du ligand (*R,R*)-**213**, développé dans son laboratoire. Les ADcs d'allyl énoles carbonates ont été réalisées soit dans le toluène, soit dans le 1,4-dioxane et les rendements et excès énantiomériques se sont révélés aussi bons que ceux obtenus par Stoltz (Schéma 105).²⁴⁶ L'avantage de cette méthode est que les deux énantiomères des ligands sont commerciaux, contrairement à la *t*-BuPHOX où seul l'énantiomère (*S*) est commercial.

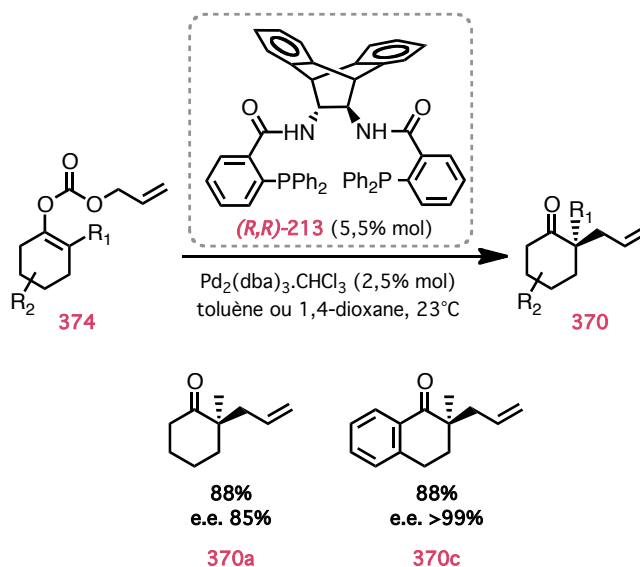


Schéma 105 : Méthode de Trost sur les allyl énoles carbonates

Par la suite, une avancée significative a été faite par Trost en étendant l'approche aux cétones acycliques avec de tout aussi bons résultats.²⁴⁷ Ils ont également pu montrer que des substrats possédant un carbone tertiaire chiral en α de la cétone cyclique ($R_1 = H$) pouvaient être obtenus avec des excès énantiomériques élevés.

²⁴⁶ (a) Trost, B. M.; Xu, J. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 2846-2847. (b) Trost, B. M.; Xu, J.; Schmidt, T. *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 18343-18357.

²⁴⁷ Trost, B. M.; Xu, J. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 17180-17181.

Dernièrement, ils ont appliqué cette méthodologie avec succès aux imidazoles **375** (Schéma 106). Après l'étape d'ADc, l'imidazole énatioenrichi **376** a facilement pu être transformé en acide carboxylique, ester, amide ou cétone, permettant ainsi l'accès à des motifs variés avec une complète rétention de configuration.²⁴⁸

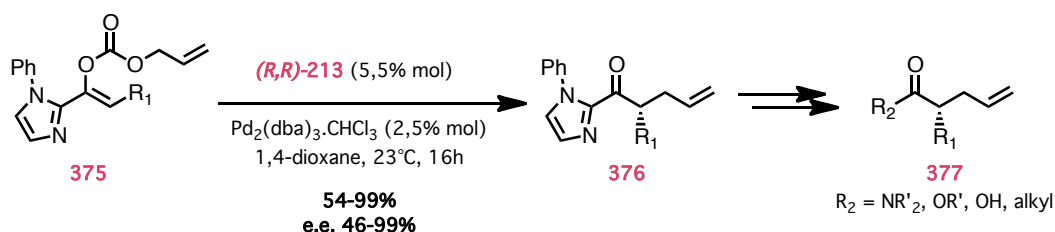


Schéma 106 : ADc asymétrique sur des énoles carbonates dérivés d'imidazole

1.3.2. A partir de β -cétoester

1.3.2.1. Travaux de Stoltz

Il s'est avéré que dans certains cas, les carbonates pouvaient conduire à des problèmes de régiosélectivité. Les β -cétoesters sont alors apparus comme la solution recherchée pour former l'énolate de manière régiosélective.

Comme ces composés ont l'avantage d'être facile à préparer, à manipuler, et à purifier, Stoltz a également choisi d'appliquer sa méthodologie à ce type de substrats (Schéma 107).²⁴⁹ Les excès énantiomériques obtenus sont comparables aux ADcs d'allyl énoles carbonates tandis que les rendements varient selon les produits allylés formés.

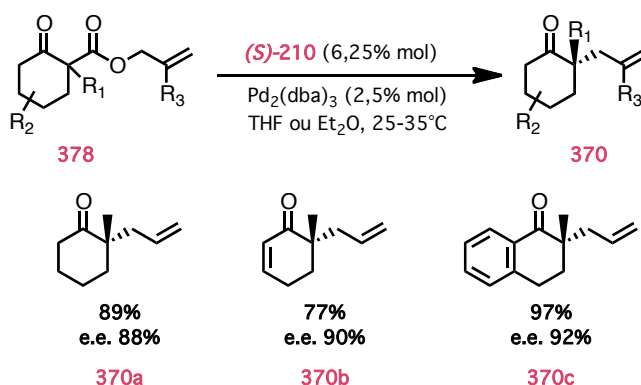


Schéma 107 : Méthode de Stoltz sur les β -cétoesters

²⁴⁸ Trost, B. M.; Lehr, K.; Michaelis, D. J.; Xu, J.; Buckl, A. K. *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 8915-8917.

²⁴⁹ (a) Mohr, J. T.; Behenna, D. C.; Harned, A. M.; Stoltz, B. M. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 6924-6927. (b) Mohr, J. T.; Nishimata, T.; Behenna, D. C.; Stoltz, B. M. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 11348-11349.

1.3.2.2. Travaux de Trost

De la même façon, Trost a également élargi l'application de sa méthode aux β -cétoesters (Schéma 108). En effet, lors de ces travaux sur les éthers et thioéthers d'énol cycliques, des soucis de régiosélectivité ont été observés avec les allyl énoles carbonates.²⁵⁰ Avec cette nouvelle stratégie, les produits **380 a-c** ont toujours été obtenus avec de bons rendements et excès énantiomériques.

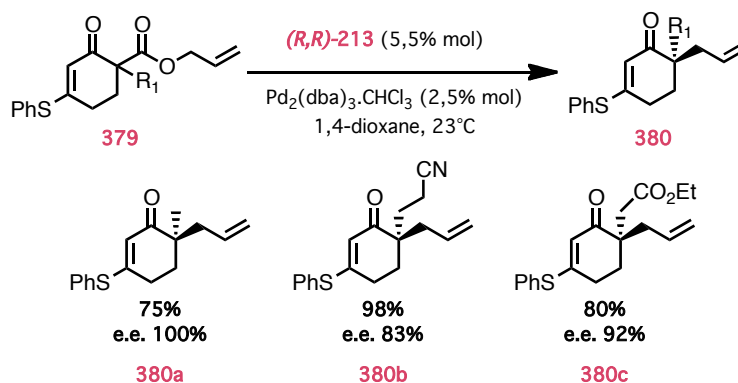


Schéma 108 : Méthode de Trost sur les β -cétoesters

Cette année, Trost a également fait une découverte surprenante sur l'effet du contre-ion de l'énolate formé.²⁵¹ Au cours de ces travaux sur les décarboxylations de β -cétoesters de la tétralone, une inversion d'induction asymétrique a été observée selon la base mise en jeu. En effet, avec une base telle que LiHMDS, utilisée comme additif avec du 1,2-dichloroéthane comme solvant, le produit allylé de configuration absolue *R* a été obtenu majoritairement (Schéma 109, A). En revanche, sans base ou avec du Cs_2CO_3 dans le THF, le produit a été isolé sous sa configuration absolue *S* (Schéma 109, B).

L'ajout de TMEDA ou d'éther 12-couronne-4 dans le milieu réactionnel, permettant de piéger le lithium, a entraîné une chute conséquente du rendement, montrant ainsi que le cation joue un rôle sur la sélectivité. Son équipe a alors émis l'hypothèse qu'un agrégat de lithium serait formé, provoquant ainsi un encombrement stérique qui forcerait l'attaque du π -allylpalladium sur la face opposée (Schéma 109).

²⁵⁰ Trost, B. M.; Robert, N. B.; Jiayi, X. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, 45, 3109-3112.

²⁵¹ Trost, B. M.; Schäffner, B.; Osipov, M.; Wilton, D. A. A. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2011**, 50, 3548-3551.

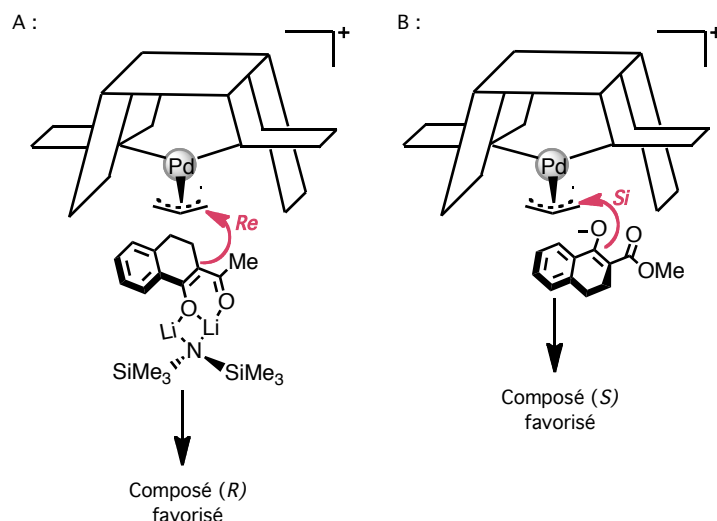


Schéma 109 : Effet du lithium sur la stéréosélectivité du produit allylé

I.4. Aspects mécanistiques

Plusieurs mécanismes plausibles ont été proposés pour les réactions d'allylations décarboxylantes asymétriques car il semblerait que des variations puissent avoir lieu selon les substrats ou les ligands mis en jeu. Une revue récente s'est attachée à résumer les conclusions générales déjà publiées sur le sujet.^{237b}

1.4.1. Etape d'ionisation ou d'addition oxydante

Les observations expérimentales s'accordent à dire que l'ionisation de l'allylcarboxylate ou de l'allylcarbonate se produit de façon similaire aux réactions de Tsuji-Trost. Après la complexation du substrat sur le palladium et l'addition oxydante, il s'en suit un équilibre entre la forme cationique **384** et la forme neutre **385** du complexe d'allylpalladium carboxylate (Schéma 110).

Si l'on illustre ceci avec les études réalisées par Stoltz sur le cycle catalytique en présence de ligands PHOX, le complexe **381** se coordine avec la chaîne allyl du cétoester **382**.²⁵² Après l'étape d'addition oxydante, le complexe plan carré à 16 électrons **385** est formé. Celui-ci a pu être analysé par diffraction aux rayons-X et semble être en équilibre avec sa forme cationique **384**.

²⁵² Sherden, N. H.; Behenna, D. C.; Virgil, S. C.; Stoltz, B. M. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, 48, 6840-6843.

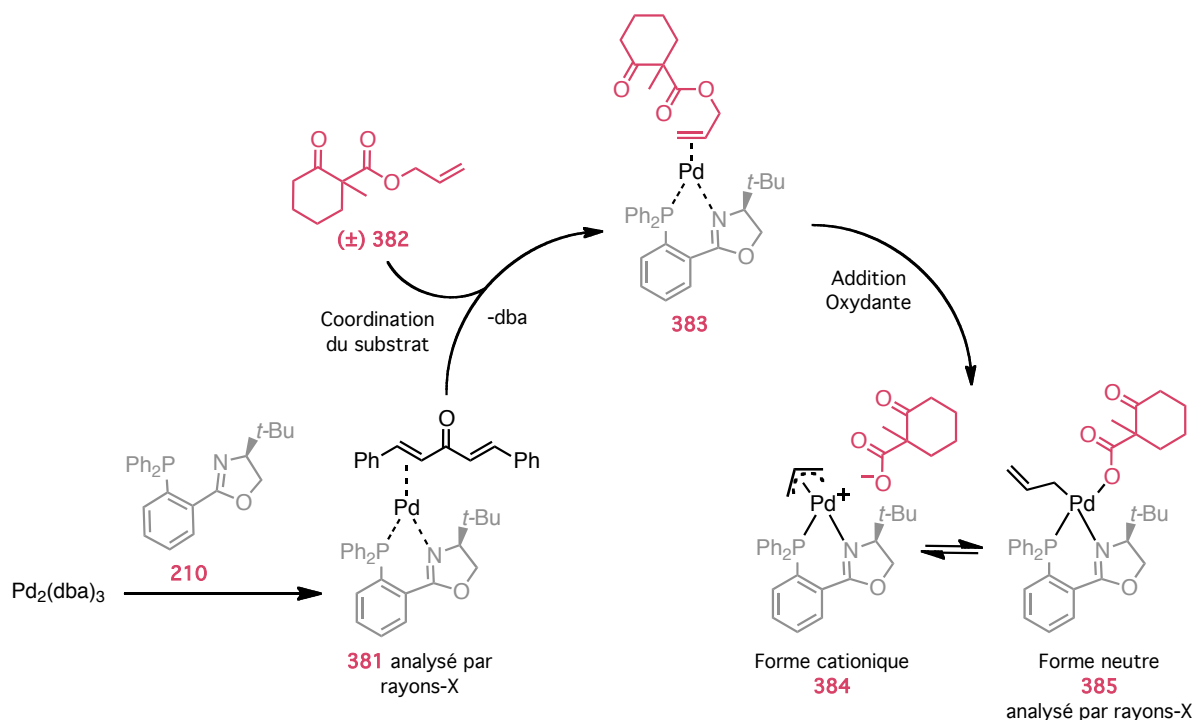


Schéma 110 : Mécanisme de l'addition oxydante illustré par Stoltz

1.4.2. Etapes de décarboxylation et d'allylation

Ce sont sur ces étapes importantes que les avis divergent le plus, puisque deux mécanismes sont proposés en fonction du type de substrat mis en jeu et des conditions de décarboxylation. Certains considèrent que l'étape de décarboxylation, entraînant la perte de dioxyde de carbone, se produit avant l'allylation du substrat tandis que d'autres envisagent l'inverse.

1.4.2.1. Cas des β-cétoesters α, α'-disubstitués

Avec les β-cétoesters α,α'-disubstitués, il a été établi que l'étape de décarboxylation avait lieu avant l'allylation de façon à créer l'espèce nucléophile nécessaire. Conformément à ce que nous avons vu dans la partie précédente, l'ionisation conduit à l'intermédiaire **387** (Schéma 111). Après la phase de décarboxylation, l'énolate **388** est formé et se trouve en équilibre avec la forme **389**. Enfin, l'étape d'allylation conduit à la libération de la cétone **390**. Il subsiste encore de grandes interrogations sur l'étape d'addition de la chaîne allyl car le processus peut avoir lieu à l'intérieur ou à l'extérieur de la sphère de coordination du métal. Nous reviendrons sur cette question dans la partie sur les allyl énoles carbonates.

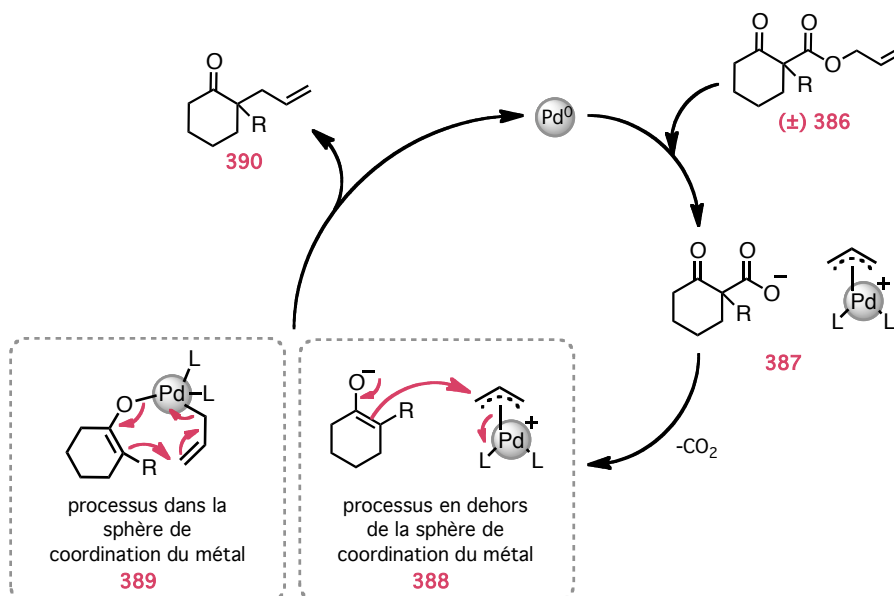


Schéma 111 : Mécanisme pour les β-cétoesters α, α'-disubstitués

1.4.2.2. Cas des β-cétoesters avec un hydrogène en position α

Dans le cas présent, de nouvelles possibilités mécanistiques sont apparues puisque le proton acide de l'intermédiaire **392** peut facilement être arraché de façon à former l'acide carboxylique **393** (Schéma 112). Cet énolate peut alors subir l'allylation de Tsuji-Trost pour conduire à l'allyl **394**. La décarboxylation permet de libérer la cétone **395**. Un intermédiaire tel que **394** a par ailleurs été observé lors de ADc sur les dihydrocoumarines, confortant ce mécanisme.²⁵³

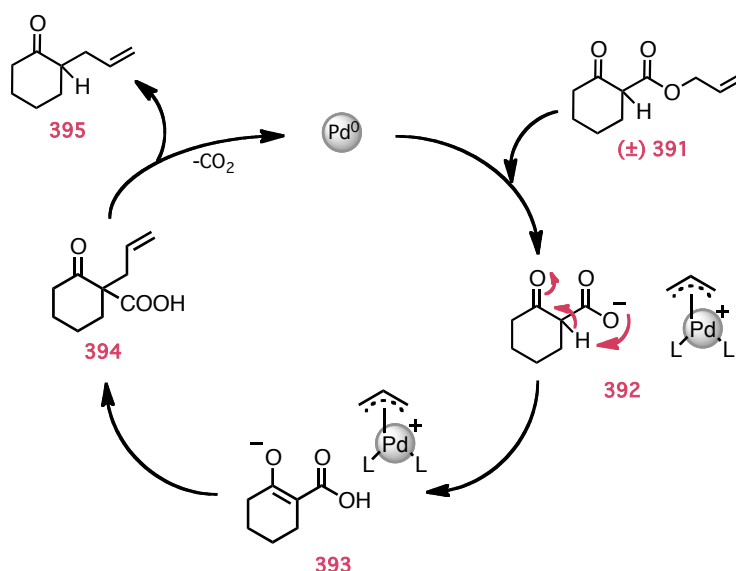


Schéma 112 : Mécanisme pour les β-cétoesters avec un hydrogène en position α

²⁵³ Chattopadhyay, K.; Jana, R.; Day, V. W.; Douglas, J. T.; Tunge, J. A. *Org. Lett.* **2010**, 12, 3042-3045.

Dans ce cas, les chercheurs s'accordent à dire que l'attaque de l'énolate **393** sur le complexe électrophile de π -allylpalladium, se produit hors de la sphère de coordination du métal.²⁵⁴

1.4.2.3. Cas des allyl énoles carbonates

Avec cette dernière classe de substrats, la chronologie entre la décarboxylation et l'allylation n'a toujours pas été établie avec certitude. Avec les ligands de Trost, en présence de Pd^0 , des études expérimentales ont été menées montrant que la décarboxylation était l'étape cinétiquement déterminante (Schéma 113). Le mécanisme comprend une double-inversion de configuration, ce qui d'après les auteurs, tend à prouver que le processus se déroule en dehors de la sphère de coordination du métal. Il a été montré aussi que l'utilisation de solvants non polaires favorisait les paires d'ions intimes des intermédiaires **397** et **388** et évitait ainsi la formation de sous-produits.^{246b}

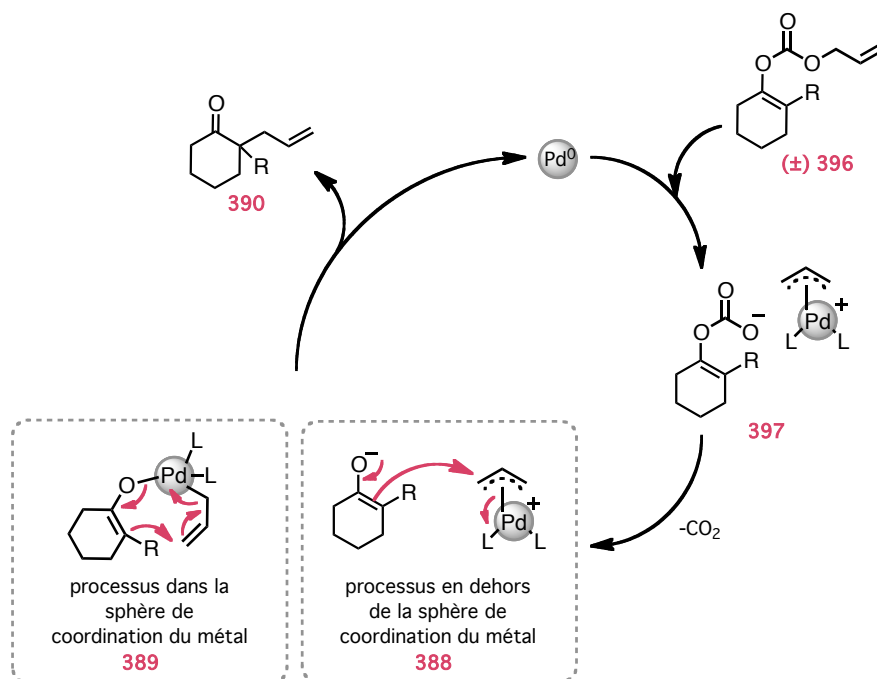


Schéma 113 : Mécanisme pour les allyl énoles carbonates

Stoltz, de son côté, s'est basé sur des calculs de densité théorique fonctionnelle (DFT) pour prouver que la décarboxylation des carbonates, catalysée par les ligands de type PHOX et le Pd^0 , se déroulait dans la sphère de coordination du métal.²⁵⁵

²⁵⁴ (a) Bäckvall, J.-E.; Ruth, E. N.; Vågberg, J. *Tetrahedron Lett.* **1983**, 24, 411-412. (b) Fiaud, J. C.; Aribi-Zouiouche, L. *Tetrahedron Lett.* **1982**, 23, 5279-5282. (c) Yan, B. Y.; Spilling, C. D. *J. Org. Chem.* **2008**, 73, 5385-5396. (d) Tsuda, T.; Okada, M.; Nishi, S.-I.; Saegusa, T. *J. Org. Chem.* **1986**, 51, 421-426.

²⁵⁵ Keith, J.A.; Behenna, D. C.; Mohr, J. T.; Ma, S.; Marinescu, S. C.; Oxgaard, J.; Stoltz, B. M.; Goddard, W. A. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, 129, 11876-11877.

Il a été mis en évidence qu'un intermédiaire comme **389** a une énergie plus basse qu'une éventuelle attaque externe de l'énolate. Une différence de 2,6 kcal/mol entre les deux approches a d'ailleurs été calculée. De plus, il a été suggéré qu'une élimination réductrice avait lieu à partir d'un état de transition à 7 chaînons de type **389**. La régiosélectivité de l'allylation serait alors différente car dans ce contexte, il serait possible de favoriser la formation de produits allylés branchés.

I.5. Applications en synthèse totale

Les exemples d'applications en synthèse totale abondent dans la littérature. Dans ce chapitre, nous nous sommes restreints à quelques illustrations seulement d'ADcs à partir d'allyl énoles carbonates ou de β -cétoesters.

1.5.1. Synthèse du (+)-élatol par Stoltz

Le (+)-élatol est l'un des huit membres de la famille des chamigrènes, définie comme une sous-classe des sesquiterpènes. Cette molécule spirocyclique a été isolée de l'algue marine *Laurencia eletata*²⁵⁶ et a montrée notamment des activités antifongiques,²⁵⁷ antibactériennes,²⁵⁸ et cytotoxiques.²⁵⁹

L'équipe de Stoltz a choisi de développer une voie d'accès générale aux différentes molécules de cette famille de composés.²⁶⁰ Pour se faire, ils ont employé avec succès une ADc d'allyl énoles carbonates sur des dérivés d'éthers vinylogues cycliques (Schéma 114). L'emploi du ligand (*R*)-**399** a permis la transformation du carbonate **398** racémique en cétone **400** avec un rendement de 82 % et un excès énantiomérique 87 %. Après cinq étapes, le (+)-élatol **401** a ainsi pu être isolé.²⁶¹

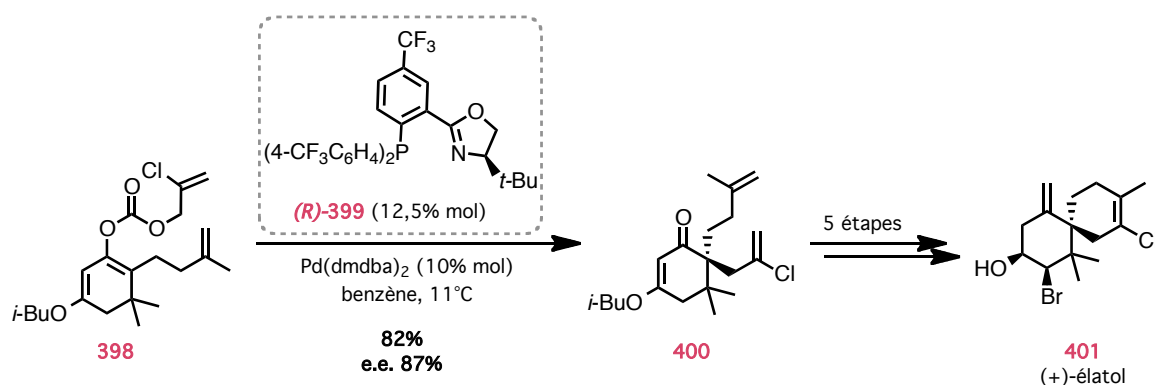


Schéma 114 : Application de la ADc pour la synthèse formelle du (+)-élatol

²⁵⁶ Sims, J. J.; Lin, G. H. Y.; Wing, R. M. *Tetrahedron Lett.* **1974**, 15, 3487-3490.

²⁵⁷ Koning, G. M.; Wright, A. D. *J. Nat. Prod.* **1997**, 60, 967-970.

²⁵⁸ (a) Vairappan, C. S.; Daitoh, M.; Suzuki, M.; Abe, T.; Masuda, M. *Phytochemistry* **2001**, 58, 291-297. (b) Martin, J. D.; Pérez, C.; Ravelo, J. L.; *J. Am. Chem. Soc.* **1986**, 108, 7801-7811.

²⁵⁹ Dias, T.; Brito, I.; Moujir, L.; Paiz, N.; Darias, J.; Cueto, M. J. *J. Nat. Prod.* **2005**, 68, 1677-1679.

²⁶⁰ White, D. E.; Stewart, I. C.; Seashore-Ludlow, B. A.; Grubbs, R. H.; Stoltz, B. M. *Tetrahedron*, **2010**, 66, 4668-4686.

²⁶¹ White, D. E.; Stewart, I. C.; Grubbs, R. H.; Stoltz, B. M. *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, 130, 810-811.

1.5.2. Synthèse de la (S)-oxybutynin par Trost

La (S)-oxybutynin est un composé pharmaceutique, utilisé pour traiter les désordres urinaires. Jusqu'à présent, seule sa forme racémique était commercialisée. Des études complémentaires ont montré que la molécule de configuration absolue (S) améliorerait considérablement les propriétés biologiques, ce qui a conduit à l'apparition de nouvelles méthodes de synthèses asymétriques.

Trost a proposé une approche basée sur l'ADc du carbonate **402** (Schéma 115).²⁶² L'association d'une source de Pd⁰ et du ligand diphosphine (R,R)-**213** a conduit à l'aldéhyde **403** sous la forme d'un mélange 11:1 de deux diastéréoisomères. L'excès énantiomérique du diastéréoisomère majoritaire a d'ailleurs été particulièrement remarquable (e.e. = 99 %). Quelques aménagements fonctionnels ont permis de former rapidement la (S)-oxybutynin désirée.

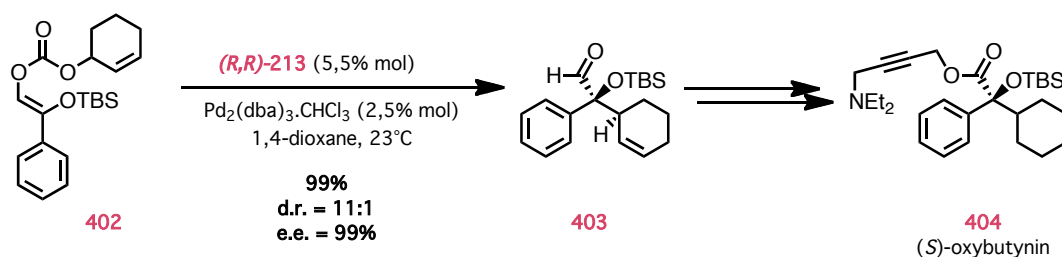


Schéma 115 : : Application de l'ADc pour la synthèse formelle de la (S)-oxybutynin

1.5.3. Synthèse de la spirotryprostatine B par Trost

Grâce à l'utilisation efficace d'une prénylation catalysée par le palladium, la synthèse de la spirotryprostatine B **408** a pu être finalisée en seulement 8 étapes.²⁶³ Ceci était d'ailleurs un challenge ambitieux vu la complexité de la structure. Le contrôle de la stéréochimie du centre quaternaire spirocyclique, ainsi que du centre stéréogène adjacent porteur du motif prényl, ne semblait de prime abord pas évident.

Après une synthèse rapide du composé **405** (5 étapes, 37 %), l'ADc a conduit à l'isomère désiré **407** comme produit majoritaire (Schéma 116). L'optimisation de cette étape a nécessité l'utilisation de 10 % molaire du ligand (R,R)-**212** et un chauffage du milieu réactionnel à 60°C. Le rendement a alors été augmenté à 89 % et un rapport diastéréoisomérique de 16:1 ainsi qu'une régiosélectivité de 14/1 ont été observés. Ce résultat indique que la réaction passe bien par l'anion allylique **406**. Après

²⁶² Bakale, R. P.; Lopez, J. L.; McConville, F. X.; Vandenbossche, C. P.; Senanayake, C. H. *US Patent*, **2000**, 6140529.

²⁶³ Trost, B. M.; Stiles, D. T. *Org. Lett.* **2007**, 9, 2763-2766.

fonctionnalisation de la chaîne allyl puis cyclisation, l'équipe de Trost a pu synthétiser la spirotryprostatin B **408**.

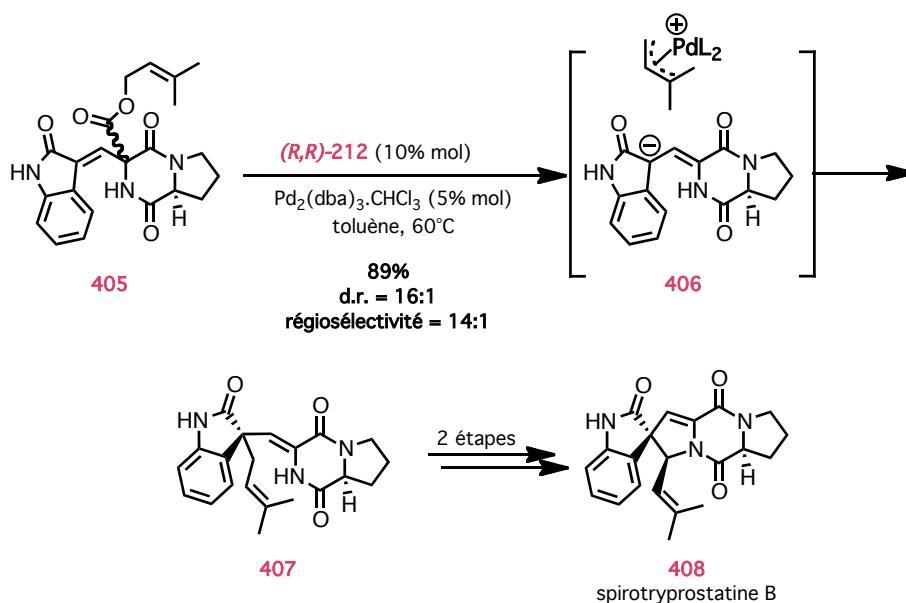


Schéma 116 : Application de l'ADc asymétrique à la synthèse totale de la spirotryprostatin B

1.5.4. Synthèse de la (+)-carrissone et du (+)-cassiol par Stoltz

L'alkylation allylique catalysée par le palladium, développée dans le laboratoire de Stoltz, a été appliquée à la chimie des sesquiterpènes. En 2009, les synthèses totales de la (+)-carrissone²⁶⁴ et du (+)-cassiol,²⁶⁵ molécules connues respectivement pour leurs propriétés antibactériennes et anti-ulcérogéniques, ont été accomplies. À chaque fois, des cétones en α d'un centre quaternaire ont été synthétisées avec d'excellents rendements et de hautes sélectivités. Les auteurs ont travaillé avec des dérivés d'éthers ou de thioéthers vinylogues et ont ainsi pu jouer sur la transposition du carbonyle développée par Stork et Danheiser en 1973.²⁶⁶

Les premiers essais d'ADCs pour la synthèse de la (+)-carrissone ont été effectués sur l'allyl énoil carbonate **409**, mais l'instabilité du produit de départ a poussé les auteurs à travailler avec le β -cétoester **411** (Schéma 117). La conversion de l'ester **411** étant faible même à 50°C, ils ont étudié l'ADc sur le thioéther **413**, ce qui a permis de former le céto-allyl **414** avec un rendement de 86 % et un excès énantiomérique de 92 %.

²⁶⁴ Levine, S. R.; Krout, M. R.; Stoltz, B. M. *Org. Lett.* **2009**, *11*, 289-292.

²⁶⁵ Petrova, K. V.; Mohr, J. T.; Stoltz, B. M. *Org. Lett.* **2009**, *11*, 293-295.

²⁶⁶ Stork, G.; Danheiser, R. L. *J. Org. Chem.* **1973**, *38*, 1775-1776.

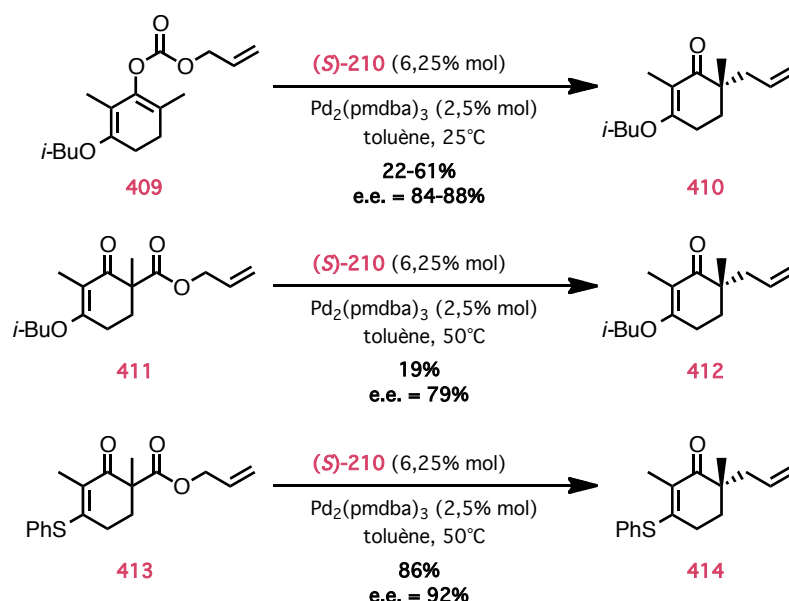


Schéma 117 : Etudes comparatives de l'ADc

En utilisant le ligand (R)-210, la molécule **414** de même configuration absolue que les molécules naturelles a pu être obtenue (Schéma 118).²⁶⁴ Par la suite, la conversion du thioéther d'énol **414** en éther vinylogue **415** a été réalisée avec du méthanolate de sodium au reflux du méthanol. L'addition de bromure d'allyl magnésium, suivie d'une hydrolyse acide, a fourni l'énone **416** avec un très bon rendement de 94 %. Les huit dernières étapes de synthèse de la (+)-carissone **417** s'effectuent avec un rendement global de 35 %.

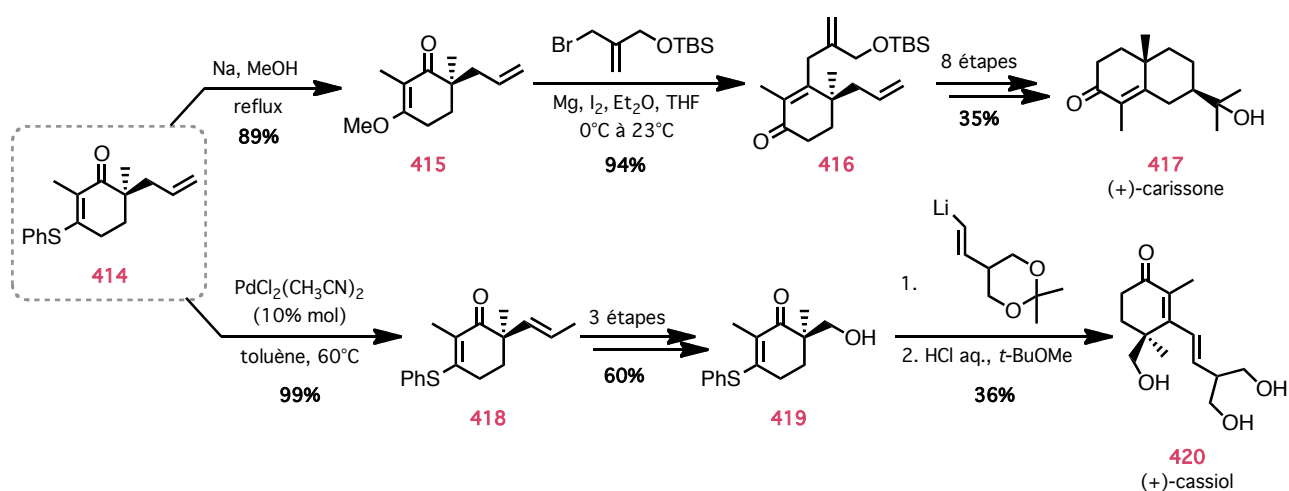


Schéma 118 : Synthèses totales du (+)-cassiol et de la (+)-carissone

Dans le cas de la synthèse du (+)-cassiol **420**, le céto-allyl **414** a été isomérisé par du Pd^{II} , puis l'alcène **418** a été transformé en 3 étapes en alcool primaire **419** (dihydroxylation, coupure oxydante et réduction).²⁶⁵ L'addition du lithien dans la dernière étape permet l'inversion de l'énone puis la déprotection du diol en milieu acide permet d'obtenir la molécule naturelle désirée **420**.

II. Résultats personnels et discussion

II.1. Analyse rétrosynthétique

La nature énantioconvergente des réactions d'ADc est conceptuellement intéressante et permet la conversion directe de composés racémiques en produits énantiomériquement enrichis. Nous avons donc choisi d'appliquer cette méthodologie efficace et rapide à la synthèse de la spiroimine de la GYM **8a**.

Si l'on rappelle le schéma rétrosynthétique présenté dans le chapitre 2, la spiroimine **166** proviendrait d'une séquence de cycloaddition-[3+2]/dédiazotation, entre une fonction azoture et un alcène, issu de l'isomérisation de la chaîne allyl du composé **172**. Ces substrats énantiomériquement enrichis proviendraient de l'allylation décarboxylante asymétrique de β -cétoesters **173** ou d'allylcarbonates **174** racémiques, tout deux issus de l'acylation et de l'alkylation de cétones cycliques **175**.

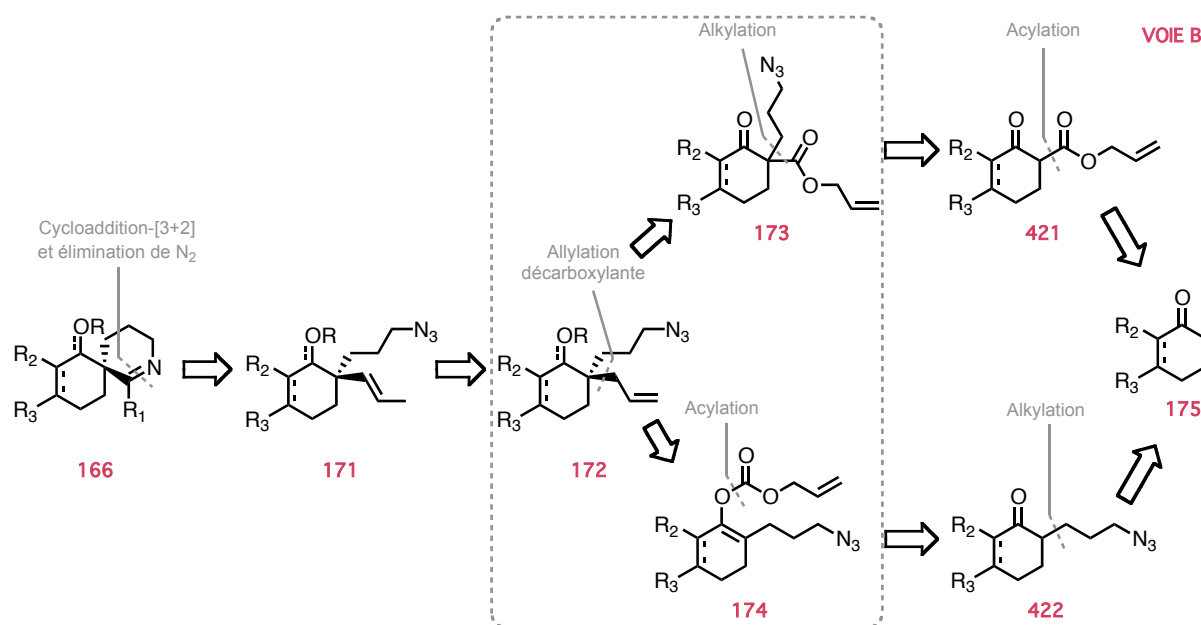


Schéma 119 : Rétrosynthèse basée sur l'utilisation de l'ADc asymétrique

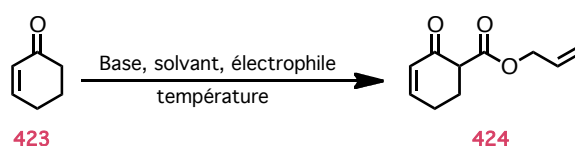
Si cette stratégie s'avérait viable, l'avantage majeur des ADcs par rapport aux AAA, serait la généralisation de la méthode à la synthèse de spiroimines-6,7 présentes dans les spirovides. En effet, en partant d'un β -cétoester **173** ou d'un allylcarbonate **174** avec une chaîne alkyle à 4 carbones, il serait possible d'intégrer l'imine dans un cycle à 7 chaînons.

Dans le cadre de notre étude, nous avons tout d'abord procédé à la validation de la méthode sur des substrats modèles en réalisant des ADCs à partir de β -cétoesters, plus stables que leurs analogues carbonates d'après la littérature.

II.2. Synthèse des β -cétoesters alkylés

II.2.1. Etape d'acylation sur l'énone **423**

Avec notre nouvelle voie synthétique, il serait possible d'atteindre le fragment spiroimine de la GYM A **8a** en seulement 5 étapes à partir d'une cétone correctement choisie (Schéma 119). Les deux premières étapes consistent à former le β -cétoester **173** en introduisant l'ester allylique en α de la cétone puis en alkylant en cette même position avec l'électrophile portant un azoture. Plusieurs conditions réactionnelles ont été testées pour optimiser l'étape d'acylation sur la cyclohexénone **423** commerciale (Tableau 21).



ENTREE	BASE	SOLVANT	T°C	ELECTROPHILE	RDY (%)
1	NaH	DME ou THF	TA	<chem>C=CCOC(=O)OCC=C</chem>	0
2	LDA	THF	-78°C à TA	<chem>C=CCOC(=O)C(=O)OCC=C</chem>	15-55
3	LDA	THF	-78°C à TA	<chem>C=CCOC(=O)C#N</chem>	46-65
4	LDA	THF	-78°C à TA	<chem>C=CCOC(=O)Cl</chem>	20-64
5	LDA	Toluène	-78°C à TA	<chem>C=CCOC(=O)Cl</chem>	35-47

Tableau 21 : Optimisation de l'acylation sur la cyclohexénone

La déprotonation par le NaH, dans le DME ou le THF, puis l'attaque sur le diallylcarbonate n'a pas permis la conversion de la cyclohexénone **423** (entrée 1). En revanche, l'utilisation d'une base lithiée, comme la LDA dans le THF, associée à des électrophiles tels que l'allylphosphonoformate (entrée 2), l'allylcianoformate (entrée 3) ou l'allylchloroformate (entrée 4), a permis d'obtenir le β -cétoester **424** avec des rendements moyens oscillants entre 15 et 65 %. Finalement, le changement du solvant réactionnel (entrée 5) n'a pas permis d'obtenir de bien meilleurs résultats.

Les résultats de l'étape d'acylation étant peu dépendants de l'espèce électrophile engagée, l'addition lente d'allylchloroformate commercial a été préférée. Ainsi, après optimisation et en utilisant de la LDA fraîchement préparée, le composé acylé **424** a pu être formé avec des rendements de l'ordre de 50 à 60 %.

Il est important de préciser que l'allylphosphonoformate **426**²⁶⁷ et l'allylcianoformate **427**²⁶⁸ ont dû être synthétisés (Schéma 120). Pour cela, l'allylchloroformate **425** a été mélangé à de la triéthylphosphite ce qui a conduit quantitativement à l'électrophile **426**. En revanche, seul 21 % d'allylcianoformate **427** ont été récupérés à cause de la volatilité du produit formé.

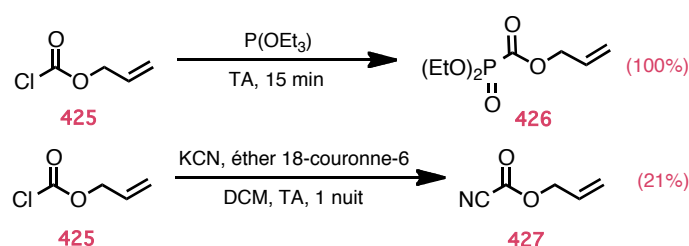


Schéma 120 : Préparation de l'allylcianoformate et de l'allylphosphonoformate

II.2.2. Etape d'alkylation sur le β -cétoester **424**

La préparation de la chaîne alkyle iodée **430** a été réalisée en deux étapes : formation de l'azoture **429** par réaction du 1,3-chlorobromopropane avec l'azoture de sodium, puis substitution du chlore par l'iode de sodium au reflux de l'acétone (Schéma 121).²⁶⁹ Le 1,3-azidoiodopropane **430** a ainsi été obtenu avec un rendement global de 72 %. L'électrophile à 4 carbones **433** a été préparé de la même façon à partir 1,4-chlorobromobutane **431** avec un rendement global de 78 %.

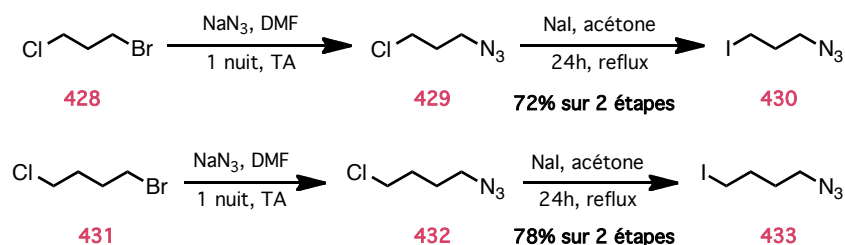


Schéma 121 : Synthèse du 1,3-azidoiodopropane et du 1,4-azidoiodobutane

²⁶⁷ Yamada, C. M.; Dellinger, D. J.; Caruthers, M. H. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 5251-5261.

²⁶⁸ Donnelly, D. M. X.; Finet, J. P.; Rattigan, B. A. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1993**, 1729-1735.

²⁶⁹ Yao, L.; Smith, B. T.; Aubé, J. *J. Org. Chem.* **2004**, *69*, 1720-1722.

Par la suite, les divers essais d'alkylations envisagés sur le β -cétoester **424** ont montré que l'utilisation de carbonate de césium à 80°C dans l'acétonitrile conduisait bien à la conversion du substrat. Cependant les rendements isolés en produit **434** se sont montrés peu reproductibles.²⁶⁵

En revanche, l'utilisation de l'hydruide de sodium dans le DMF à température ambiante a permis de transformer totalement le substrat **424** après une nuit, et d'isoler le produit désiré **434** avec un rendement de 85 %.²⁷⁰ Globalement, le composé dérivé de la cyclohexénone **434** a donc pu être synthétisé avec un rendement de 54 % (Schéma 122).

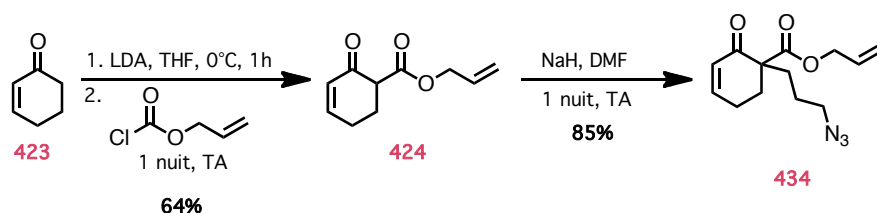


Schéma 122 : Synthèse du β -cétoester dérivé de la cyclohexénone

II.2.3. Formation des autres β -cétoesters

Comme l'accès au β -cétoester **434** est simple et efficace, nous avons préparé différents β -cétoesters allylés **437**, précurseurs de spiroimines différemment fonctionnalisées, afin de compléter des études de relations structure-activité (Schéma 123).

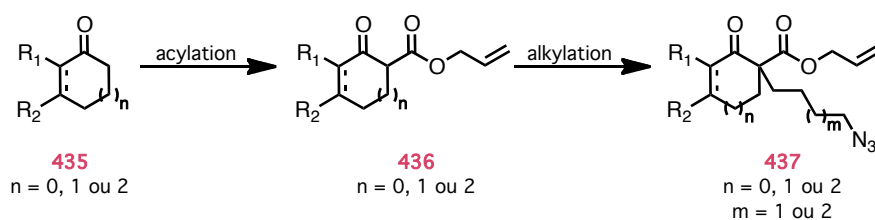
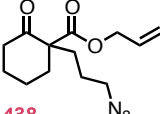
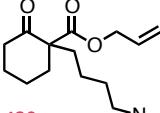
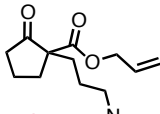
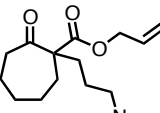
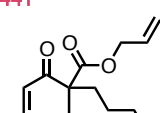
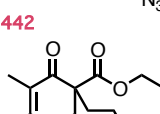
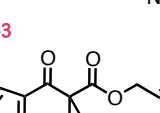
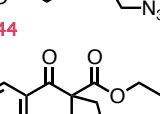


Schéma 123 : Préparation des autres β -cétoesters

Le même travail a donc été reproduit pour préparer les substrats **438**, **439**, **440**, **441**, **442**, **443**, **444** et **445** (Tableau 22). Face aux rendements modestes obtenus, plusieurs conditions ont souvent été testées, mais seuls les meilleurs résultats vous sont présentés ici.

²⁷⁰ Yoshioka, M.; Saitosh, M.; Arai, H.; Ichikawa, K.; Hasegawa, T. *Tetrahedron* **1987**, 43, 5237-5244.

EN-TREE	PRODUIT	CONDITION ACYLATION	RDT ACYLATION (%)	CONDITION ALKYLATION	RDT ALKYLATION (%)
1	 438	allylchloroformate LDA, THF	56	NaH, DMF	60
2	 439	allylchloroformate LDA, THF	56	NaH, DMF	60
3	 440	allylchloroformate LDA, THF	55	NaH, DMF	45
4	 441	allylchloroformate LDA, THF	56	Cs ₂ CO ₃ , ACN	50
5	 442	allylchloroformate LDA, THF	67	Cs ₂ CO ₃ , ACN	65
6	 443	allylchloroformate LDA, THF	-	Cs ₂ CO ₃ , ACN	14 ^(a)
7	 444	allylchloroformate LDA, THF	65	NaH, DMF	51
8	 445	diallylcarbonate, NaH, THF	0-44 ^(b)	Cs ₂ CO ₃ , ACN	61

(a) : rendement sur deux étapes
(b) : résultat non reproductible

Tableau 22 : Résultats des étapes d'acylation et d'alkylation

II.3. Etude de l'allylation décarboxylante asymétrique

II.3.1. Synthèse du Pd₂(pmdba)₃

Les premières tentatives d'ADc sur le β-cétoester **434**, avec le Pd₂(dba)₃, ont bien permis d'obtenir le produit décarboxylé **446** mais la purification s'est avérée impossible (Schéma 124). En effet, la faible différence de rapport frontal entre le céto-allyl **446** et le ligand dibenzylidène acétone **447** (dba), libéré dans le milieu au cours de la réaction, n'a pas permis d'isoler le produit pur malgré tous les solvants envisagés pour la séparation sur silice.

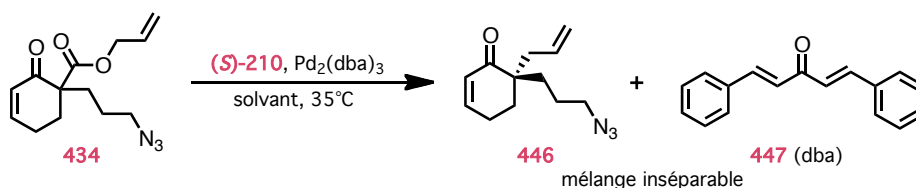


Schéma 124 : Premiers essais d'ADc sur le cétoester 434

Pour réaliser la réaction d'ADc, il a alors fallu synthétiser une autre source de palladium, le $\text{Pd}_2(\text{pmdba})_3$, dont le ligand a cette fois-ci un rapport frontal différent de celui de nos produits.²⁶⁵

Dans un premier temps, nous avons préparé le *p*-méthoxydibenzylidèneacétone **450** (pmdba). En faisant réagir le *p*-anisaldéhyde **448** avec l'acétone, en présence de soude, le produit **450** désiré a été obtenu avec un rendement de 85 % (Schéma 125).²⁷¹

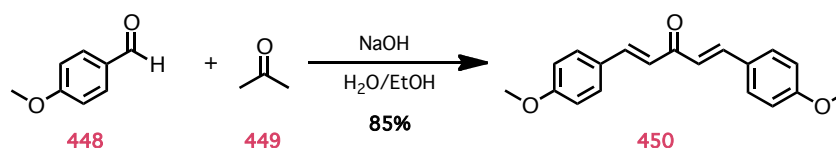


Schéma 125 : Synthèse du pmdba

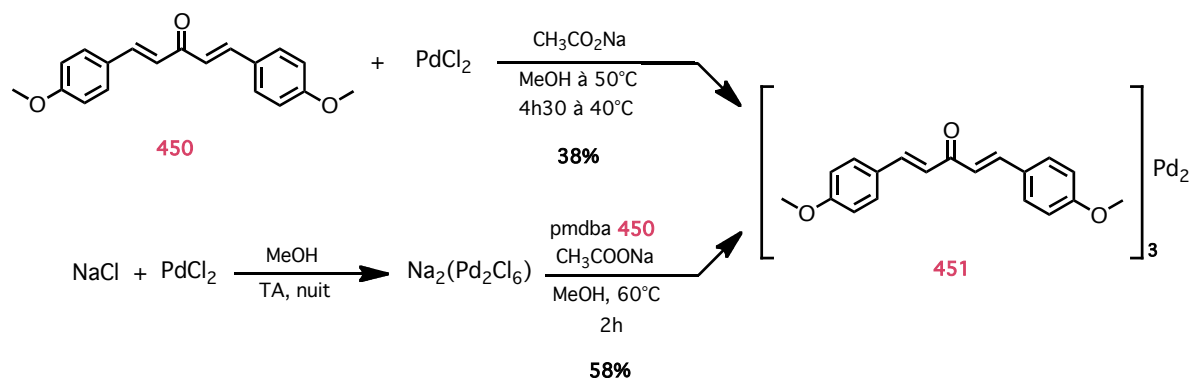
La formation du complexe de palladium, au degré d'oxydation zéro, a alors été réalisée à partir de chlorure de palladium (Schéma 126). La première approche a consisté à mélanger le pmdba **450** avec de l'acétate de sodium dans du méthanol, puis à additionner le chlorure de palladium à chaud. Seul 38 % du produit désiré **451** ont été formés, contrastant avec les résultats de la littérature donnant un rendement de 70 % pour cette même réaction.²⁷²

Une autre voie d'accès, séquentielle cette fois-ci, a alors été tentée.²⁷³ Le chlorure de palladium a été agité toute la nuit à température ambiante avec du chlorure de sodium, de manière à former une espèce dipalladiée plus active. Puis l'acétate de sodium recristallisé et le pmdba ont été ajoutés. Après 2 h dans du méthanol porté à 60°C, le catalyseur a été obtenu avec un rendement de 58 % et les essais d'ADc ont alors pu débuter.

²⁷¹ Weber, W. M.; Hunsaker, L. A.; Abcouwer, S. F.; Deck, L. M.; Vander Jagt, D. L. *Bioorg. Med. Chem.* **2005**, *13*, 3811-3820.

²⁷² Ukai, T.; Kawazura, H.; Ishii, Y.; Bonnet, J. J.; Ibers, J. A. *J. Organomet. Chem.* **1974**, *65*, 253-266.

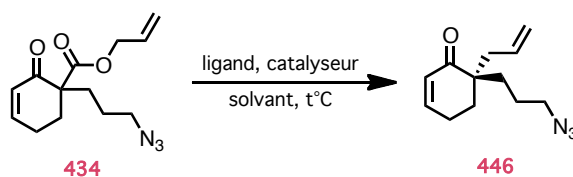
²⁷³ Rettig, M. F.; Maitlis, P. M.; Cotton, F. A.; Webb, T. R. In *Inorganic Syntheses*; Alan, G. M., Ed. **2007**, 134-137.



II.3.2. ADc du β -cétoester porteurs du motif cyclohexénone

L'utilisation de cette nouvelle source de palladium associée au ligand (*S*)-*t*-BuPHOX **210** a permis d'isoler facilement le composé allylé **446** (Tableau 23, entrées 1, 2 et 3). Des trois solvants testés, le toluène s'est particulièrement démarqué par la constance des rendements obtenus et les bons excès énantiomériques mesurés (entrée 3). L'éther diéthylique conduit également à de très bons excès énantiomériques, avec des rendements plus aléatoires selon les quantités mises en jeu (entrée 1).

Si l'on s'appuie sur les travaux de Stoltz, l'utilisation du ligand (*S*)-*t*-BuPHOX **210** conduit au composé de configuration absolue (*R*) ce qui signifie que l'énantiomère majoritaire formé n'est pas celui désiré pour accéder à la molécule naturelle (GYM A **8a**). Pour synthétiser l'autre énantiomère, il faudrait disposer du ligand de stéréochimie opposée. La (*R*)-*t*-BuPHOX n'étant pas commerciale, un essai a été réalisé avec la (*R*)-*i*-PrPHOX, ce qui a conduit à un bon rendement de 73 % mais l'excès énantiomérique n'a été que de 62 % (entrée 4). Les ligands de Trost comme **212** et **213**, dont les deux énantiomères sont commerciaux, ont alors été employés mais aucune conversion n'a été observée (entrées 5 et 6). Cette absence de réactivité n'est pas dû à la présence de l'azoture, puisqu'avec un substrat où le N_3 a été remplacé par un groupement OBn, le même résultat a été obtenu. Dans l'optique d'une synthèse totale, il sera donc primordial de préparer la (*R*)-*t*-BuPHOX.



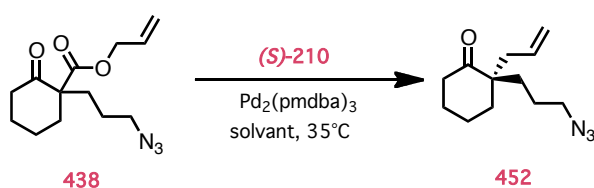
	SOLVANT	LIGAND	CATALYSEUR	T°C (°C)	EE (%)	RDT (%)
1	Et ₂ O	(<i>S</i>)- <i>t</i> -BuPHOX	Pd ₂ (pmdba) ₃	35	-90	33-88
2	hexane/toluène (2/1)	(<i>S</i>)- <i>t</i> -BuPHOX	Pd ₂ (pmdba) ₃	35	nd ^(a)	57
3	toluène	(<i>S</i>)- <i>t</i> -BuPHOX	Pd ₂ (pmdba) ₃	35	-87	77-78
4	Et ₂ O	(<i>R</i>)- <i>i</i> -PrPHOX	Pd ₂ (pmdba) ₃	35	62	73
5	1,4-dioxane	(<i>R,R</i>)- 213	Pd ₂ (dba) ₃ .CHCl ₃	TA	-	0
6	1,4-dioxane	(<i>R,R</i>)- 212	Pd ₂ (dba) ₃ .CHCl ₃	35	-	0

(a) : non déterminé

Tableau 23 : Optimisation de l'ADc sur le motif cyclohexénone

II.3.3. ADc du β-cétoester porteur du motif cyclohexanone

L'association du Pd₂(pmdba)₃ et du ligand (*S*)-*t*-BuPHOX **210** a aussi été testée sur le β-cétoester **438** comportant le motif cyclohexanone. Un screening de solvants plus important a alors été réalisé (Tableau 24).

**Schéma 128 : ADc dans différents solvants sur le β-cétoester 438**

ENTREE	SOLVANT	RENDEMENT (%)	EXCES ENANTIOMERIQUE (%)
1	DCM	66 ^(a)	nd ^(b)
2	DMF	56 ^(a)	nd ^(b)
3	Et ₂ O	48	76
4	THF	37	89
5	MTBE	25	84
6	1,2-dichlorobenzène	79	64
7	toluène	59	84
8	hexane/toluène (2/1)	72	78

(a) : conversion

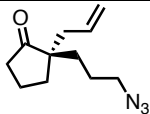
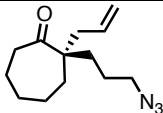
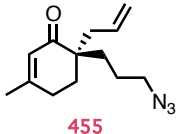
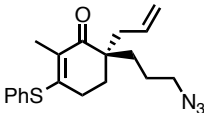
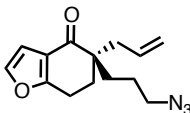
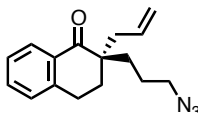
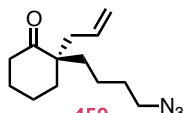
(b) : non déterminé

Tableau 24 : Screening de solvant pour l'ADc sur le motif cyclohexanone

Nous voyons qu'avec des solvants tels que le DMF ou le DCM, les conversions n'ont pas été totales (entrées 1 et 2). Les solvants étherés comme l'éther diéthylique et le MTBE ont posés des problèmes de solubilité, ce qui a entraîné des baisses de rendements significatives (entrées 3 et 5). Avec le THF, cette fois-ci, la dissolution du produit de départ **438** a été totale, mais malgré le bon excès énantiomérique obtenu, les rendements sont restés modestes (entrée 4). Le toluène a alors permis de former l'allyl **452** avec un rendement de 59 % et un excès énantiomérique de 84 % (entrée 7).

II.3.4. ADc des autres β -cétoesters synthétisés

La suite de notre démarche a consisté à généraliser ces ADcs sur plusieurs substrats pour obtenir les produits allylés **453**, **454**, **455**, **456**, **457**, **458** et **459**. Un coup d'oeil rapide sur les résultats prouvent qu'un même choix de conditions réactionnelles ne peut pas convenir à tous nos substrats (Tableau 25). Le caractère substrat-dépendant des réactions d'ADcs a donc compliqué l'approche aux spiroimines puisqu'une optimisation dans le choix du solvant a semblé nécessaire pour chaque composé.

REACTIF	PRODUIT	SOLVANT	T°C	RDT (%)	E.E. (%)
1	<div>440</div> <div></div> <div>453</div>	Et ₂ O	35	19	nd ^(b)
2		hexane/toluène (2/1)	35	59	64
3	<div>441</div> <div></div> <div>454</div>	Et ₂ O	35	32	nd ^(b)
4		hexane/toluène (2/1)	35	74	70
5	<div>442</div> <div></div> <div>455</div>	THF	35 ou 60	0	nd ^(b)
6		THF	60	0	nd ^(b)
7		toluène	35	25	nd ^(b)
8		toluène	60	27	nd ^(b)
9	<div>443</div> <div></div> <div>456</div>	THF	35	0	nd ^(b)
10		toluène	35	20	nd ^(b)
11		toluène	60	27	89
12	<div>444</div> <div></div> <div>457</div>	Et ₂ O	35	41	nd ^(b)
13		THF	35	20 ^(a)	nd ^(b)
14		toluène	35	51	83
15	<div>445</div> <div></div> <div>458</div>	Et ₂ O	35	39	nd ^(b)
16		toluène, THF, hexane/toluène, DMF, DCM, 1,2-dichlorobenzène	35	0	nd ^(b)
17		toluène	60	49	nd ^(b)
18	<div>439</div> <div></div> <div>459</div>	toluène	35	50	80
19		hexane/toluène (2/1)	35	58	76
20		THF	35	66	84

(a) : conversion

(b) : non déterminé

Tableau 25 : Bilan des principaux essais d'ADc asymétrique

Les β -cétoesters **440** et **441**, comportant un cycle à 5 ou à 7 chaînons, ne sont pas suffisamment solubles dans l'éther diéthylique pour conduire à de bons résultats (entrées 1 et 3). Il a donc fallu utiliser le mélange hexane/toluène qui avait déjà fait ses preuves avec le cycle à 6 chaînons **438**. Ceci a alors permis d'augmenter les rendements respectivement à 59 et 74 % (entrées 2 et 4). Les excès énantiomériques sont toutefois modestes. Avec le composé furanique **444**, c'est le toluène qui s'est révélé être le solvant de choix puisqu'un excès énantiomérique de 83 % a alors pu être atteint (entrée 14).

De plus, on remarque qu'avec le β -cétoester **443**, le chauffage à 35°C n'a pas été suffisant pour former le céto-allyl **456** (entrées 9 et 10). L'augmentation de la température réactionnelle à 60°C a conduit à la formation du produit désiré **456** avec un rendement faible de 27 % dans le toluène mais avec un très bon excès énantiomérique de 89 % (entrées 11). Dans les mêmes conditions, la tétralone **458** a été isolée avec un rendement de 49 % après une nuit de réaction à 60°C (entrée 17), tandis qu'avec l'énone **455** seulement 27 % de produit ont été isolés (entrée 8).

L'étape de décarboxylation allylique a aussi été réalisée sur **439** et le THF s'est distingué en permettant la formation du céto-allyl **459** avec un rendement de 66 % et un excès énantiomérique de 84 % (entrée 20).

II.4. Etude de l'étape de cycloaddition-1,3 dipolaire

Les azotures appartiennent à une classe de dipôles très utilisée en chimie organique car, par de simples réactions de substitution, ces fonctions peuvent facilement être incorporées sur des intermédiaires de synthèse. Une fois engagé dans des réactions de cycloadditions dipolaires, en présence de fonctions alcène **460** ou alcyne **461**, il est alors possible de former respectivement des triazolines **463** ou des triazoles **468** (Schéma 129). À haute température, les cycloadduits de type triazoline peuvent encore perdre du diazote, et conduire à la formation d'aziridines **465** ou d'imines **467**.^{274,275} Beaucoup de synthèses totales se sont appuyées sur ces décompositions caractéristiques.^{276,277}

²⁷⁴ Pour des revues sur les azotures, voir : (a) Sha, C.-K.; Mohanakrishnan, A. K.; *The chemistry of heterocyclic compounds*, **2002**, 59, 623-679. (b) Bräse, S.; Gil, C.; Knepper, K.; Zimmermann, V. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, 44, 5188-5240.

²⁷⁵ Pour des revues sur les cycloadditions 1,3-dipolaires, voir : (a) Pellissier, H.; *Tetrahedron* **2007**, 63, 3235-3285. (b) Nair, V.; Suja, T. D. *Tetrahedron* **2007**, 63, 12247-12275.

²⁷⁶ Pour la formation d'imines : (a) Choi, J. R.; Han, S.; Cha, J. K. *Tetrahedron Lett.* **1991**, 32, 6469-6472. (b) Schkeryantz, J. M.; Pearson, W. H. *Tetrahedron* **1996**, 52, 3107-3116.

²⁷⁷ Pour la formation d'aziridine : Ciufolini, M. A.; Chen, M.; Lovett, D. P.; Deaton, M. V. *Tetrahedron Lett.* **1997**, 38, 4355-4358.

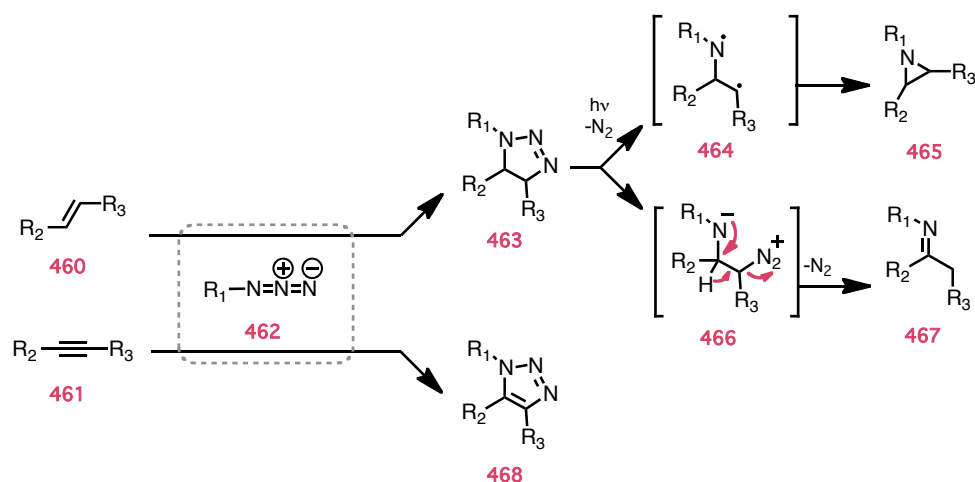


Schéma 129 : Cycloadditions avec les azotures

La formation des aziridines **465** est favorisée lorsque la réaction est conduite sous irradiation UV. D'un point de vue mécanistique, la triazoline **463** se décompose en libérant du diazote et en formant l'intermédiaire di-radical **464**. Les deux radicaux s'associent ensuite pour former l'aziridine **465**.²⁷⁸ Les imines, quant à elles, ne sont pas formées par voie radicalaire. La triazoline **463**, sous l'effet de la chaleur, se décompose en l'espèce zwitterionique **466** qui se réarrange par migration d'un hydrogène et départ d'une molécule de N₂ pour donner l'imine **467**.²⁷⁹

II.4.1. Avec les composés porteurs du motif cyclohexénone

II.4.1.1. Résultat préliminaire par chauffage thermique

En se basant sur les travaux de Cha sur la (–)-swainsonine²⁸⁰ et de Pearson sur la (±)-quinolizine,²⁸¹ des essais de cycloadditions entre la fonction azoture et l'alcène ont été envisagés sur les cétones alkylées **446** et **452**. Toutefois, pour parvenir à la formation éventuelle d'un système spirocyclique-[6,6], une isomérisation de la chaîne allyl a d'abord été réalisée. Pour cela, la chimie du palladium a une nouvelle fois été sollicitée et la réaction d'isomérisation a permis de convertir le composé **446** avec un rendement purifié de 83 % (Schéma 130).

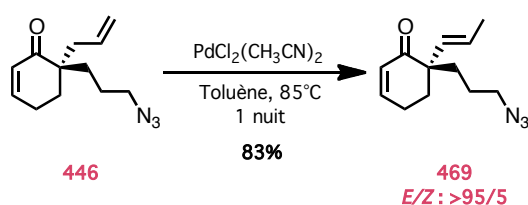


Schéma 130 : Etape d'isomérisation sur le motif cyclohexénone

²⁷⁸ Ciufolini, M. A.; Chen, M.; Lovett, D. P.; Deaton, M. V. *Tetrahedron Lett.* **1997**, 38, 4355-4358.

²⁷⁹ (a) Pearson, W. H.; Schkeryantz, J. M. *J. Org. Chem.* **1992**, 57, 6783-6789. (b) Taber, D. F.; Dekker, P. B.; Fales, H. M.; Jones, T. H.; Lloyd, H. A. *J. Org. Chem.* **1988**, 53, 2968-2971.

²⁸⁰ Bennett, R. B.; Choi, J. R.; Montgomery, W. D.; Cha, J. K. *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, 111, 2580-2582.

²⁸¹ Pearson, W. H.; Suga, H. *J. Org. Chem.* **1998**, 63, 9910-9918.

Le composé **469** a été mis en solution dans le toluène et chauffé à 120°C pendant une journée. Dans ces conditions, un mélange équimolaire de la spiroimine **472** et de la triazoline **473** a été obtenu (Schéma 131). La présence des deux oléfines sur la structure **469** rend le procédé non régiosélectif et l'on observe alors la cyclisation de l'azoture sur l'une ou l'autre des doubles liaisons. Dans notre cas, le motif aziridine n'a jamais été observé, mais la cycloaddition 1,3-dipolaire intramoléculaire conduit probablement aux triazolines **470** et **471**, dont une seule se décomposerait sous l'effet de la chaleur en spiroimine **472**.

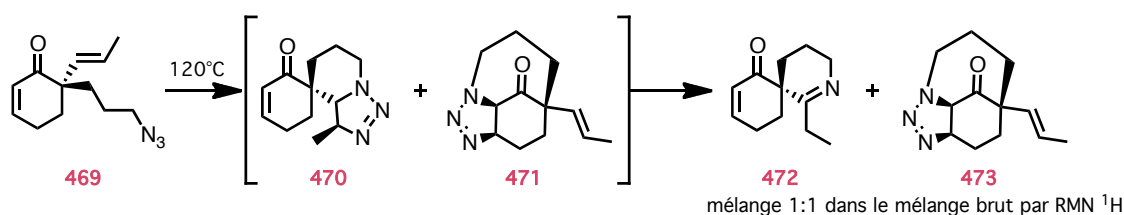


Schéma 131 : Etape de cycloaddition-[3+2] sous chauffage thermique

La triazoline **473** a été isolée et remise dans les conditions de chauffage thermique (toluène, 120°C). Cependant aucune transformation n'a été observée après 28 h, montrant que la réaction ne semble pas réversible. Après 3 jours dans ces conditions, la molécule s'est toutefois dégradée.

II.4.1.2. Résultats obtenus sous irradiations micro-ondes

Les micro-ondes sont un mode très spécifique de chauffage et le choix du solvant réactionnel peut changer beaucoup de choses sur l'issue de la réaction. À l'origine, ces radiations non-ionisantes engendrent le déplacement des ions et la rotation des dipôles, mais n'affectent pas la structure moléculaire.²⁸² Elles orientent les dipôles dans une même direction et accentuent le pouvoir de chauffe pendant la durée de la réaction. Une fois la génération des micro-ondes arrêtée, les molécules retournent à leur état désordonné.

Le transfert d'énergie n'est pas produit par un phénomène de conduction et de convection comme dans un processus de chauffage thermique classique, mais par une perte diélectrique. La capacité d'un échantillon à réagir aux irradiations micro-ondes va donc dépendre de sa capacité à absorber l'énergie (constante diélectrique, ϵ'), puis de sa capacité à transformer cette énergie en chaleur (facteur de perte diélectrique, ϵ'').²⁸³ Un facteur de dissipation ($\tan \delta = \epsilon'' / \epsilon'$) important entraîne une forte probabilité de réaction aux irradiations micro-ondes.

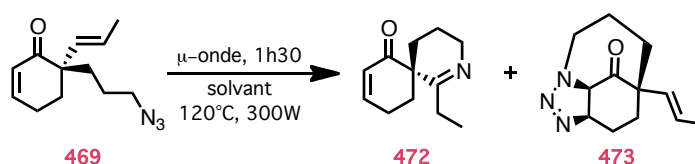
²⁸² Bougrin, K.; Loupy, A.; Soufiaoui, M. *J. Photochem. Photobiol. C Photochem. Rev.* **2005**, 6, 139-167.

²⁸³ Gabriel, C.; Gabriel, S.; Grant, E. H.; Halstead, B. S. J.; Mingos, D. M. P. *Chem. Soc. Rev.* **1998**, 27, 213-224.

De façon simplifiée, plus la polarité de la molécule est importante, plus l'effet des micro-ondes est prononcé. Le solvant réactionnel joue alors un rôle primordial puisque c'est lui qui va principalement absorber l'énergie et la transformer en chaleur. Le rendement dépend donc essentiellement du solvant employé et du mécanisme réactionnel. Ce mode de chauffage peut quelquefois être déterminant pour la sélectivité puisqu'en cas de compétition entre deux réactions, le mécanisme passera préférentiellement par l'état de transition le plus polaire.

Pour résumer, les micro-ondes permettent souvent d'obtenir des conversions plus rapides et quelquefois une certaine sélectivité. En effet, chaque fonction chimique ne réagit pas de manière équivalente à la fréquence des micro-ondes, ce qui induit une sélectivité de chauffe pour chacune d'entre elles. Il faut par contre se restreindre en travaillant sur de petites quantités.

À la vue de ces données bibliographiques, nous avons étudié la réaction de cycloaddition sous irradiation micro-ondes, en espérant favoriser la sélectivité de la réaction sur l'alcène exo-cyclique (Tableau 26).



ENTREE	SOLVANT	DUREE	CONVERSION (%) (% 472 / % 473)	RDT EN 472 (%)
1	toluène	1h30	100 (50/50)	50
2	THF	1h30	30 (30/70)	28
3	DMF	1h30	100 (50/50)	-
4	1,2-dichlorobenzène	1h30	nd ^(a)	62

(a) : non déterminé

Tableau 26 : Optimisation de la cycloaddition sur le motif cyclohexénone

Le toluène et le DMF ont permis de convertir totalement l'alcène **469**, mais un mélange équimolaire de spiroimine **472** et de triazoline **473** a été observé (entrées 1 et 3). Le THF ne semble pas favorable à ce type de réaction puisque la conversion reste faible, donnant principalement la triazoline (entrée 2). En revanche, le 1,2-dichlorobenzène semble prometteur puisque 62 % de spiroimine **472** a pu être isolée (entrée 4). Ce choix de solvant n'a pas été effectué au hasard. Après le toluène ou le benzène, c'est l'un des solvants les plus utilisés pour les cycloadditions soumises aux micro-ondes. Cependant, la faible volatilité du 1,2-dichlorobenzène ne nous a pas permis de déterminer le rapport entre les deux produits.

II.4.1.3. Tentative de synthèse de spiroimine-6,7

Dans le cadre des évaluations biologiques, la réalisation de cycloadditions sur des molécules non isomérisées telles que **446** ou encore sur des molécules avec une chaîne alkyle comportant 4 carbones comme **474**, permettrait d'obtenir des spiroimines intéressantes (Schéma 132). En effet, il serait alors possible d'étudier l'influence de la position de l'imine dans le cycle avec des substrats tels **475** et **476** ou encore l'influence de la taille du cycle, en comparant avec les imines **476** et **477**.

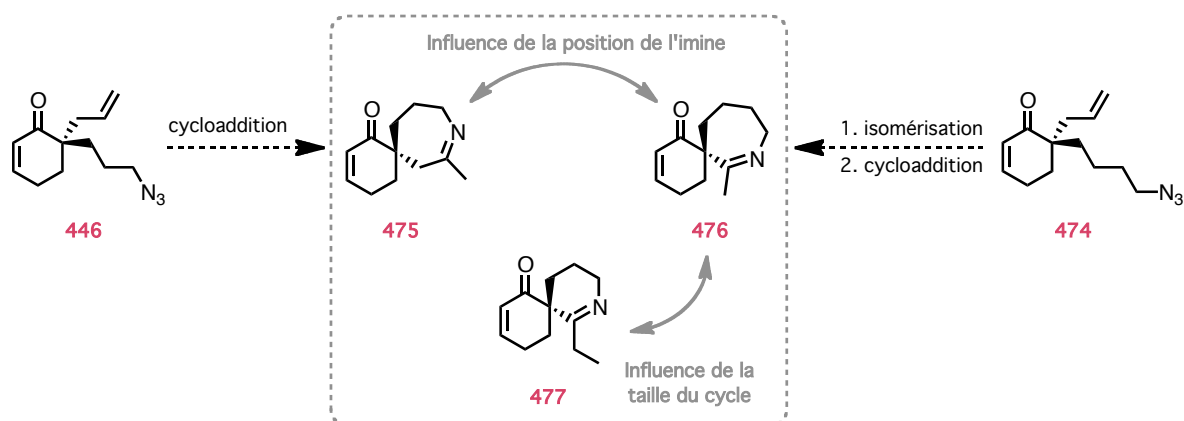


Schéma 132 : Objectifs pour la synthèse de spiroimines-6,7

Lorsque le composé **446** a été mis au reflux du toluène deutéré, nous avons observé la formation exclusive de la triazoline **478** pendant le suivi RMN ^1H (Schéma 133). Les deux oléfines, endo- et exocyclique, semblent donc se distinguer par une grande différence de réactivité probablement parce que les orbitales de la double liaison endocyclique se recouvrent plus facilement avec celles de l'azoture. D'autre part, la cycloaddition sur le composé **474**, possédant la chaîne à quatre carbones, n'a pas encore été réalisée à ce jour.

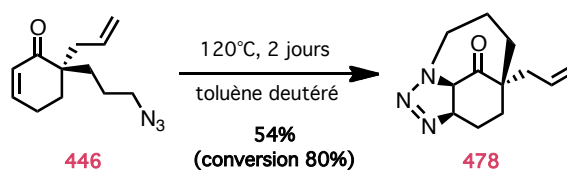


Schéma 133 : Cycloaddition avec le substrat cyclohexénone non isomérisé

II.4.2. Avec les composés porteurs du motif cyclohexanone

II.4.2.1. Formation de spiroimine-6,6

La même stratégie d'isomérisation puis de cycloaddition intramoléculaire a été envisagée sur le céto-allyl **452** (Schéma 134). L'étape d'isomérisation a conduit à l'alcène **479** avec un rendement de 78 %. D'autre part, la première tentative de cycloaddition sous irradiation micro-ondes, n'a pas été concluante. En effet, aucune conversion n'a été observée après 1h30 dans du toluène à 120°C. La réaction a alors été réalisée sous chauffage thermique dans du toluène deutéré et un suivi RMN ^1H a permis de montrer que 9 jours étaient nécessaires pour former la spiroimine **480**. Cette dernière s'est révélée moins stable que son analogue insaturé **472** puisqu'après quelques jours seulement, la molécule **480** s'est dégradée. Aucun test biologique n'a donc pu être effectué avec ce composé.

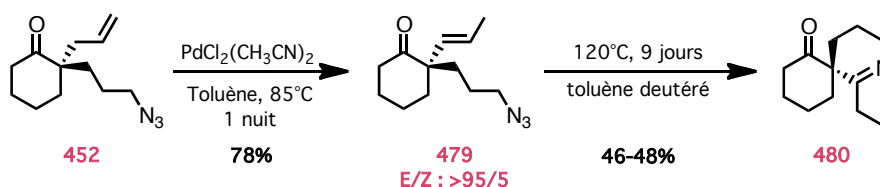


Schéma 134 : Isomérisation puis cycloaddition sur le motif cyclohexanone

II.4.2.2. Tentative de synthèse de spiroimine-6,7

La préparation des spiroimines **481** et **482** a aussi été envisagée à partir du motif cyclohexanone (Figure 31). Dans ce cas, les substrats de départ **452** et **459**, ne possèdent qu'une seule fonction alcène, évitant ainsi toute compétition de cycloaddition comme dans le cas du motif cyclohexène.

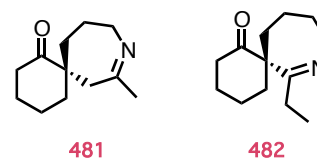


Figure 31 : Cibles synthétiques

Le composé **452** dont la chaîne allyl n'a pas été isomérisée a été placé pendant 4 jours dans du toluène deutéré à 120°C pour convertir totalement le produit de départ (Schéma 135). Le spectre RMN ^1H indique quatre massifs, entre 3 et 5 ppm, qui intègrent pour les 5 protons H_A , H_B , H_C et H_C' . Ceci nous pousse à penser que c'est la triazoline **483** qui a été formée. Des analyses complémentaires seraient nécessaires pour confirmer cette hypothèse mais malheureusement, le produit s'est dégradé sur colonne de silice.

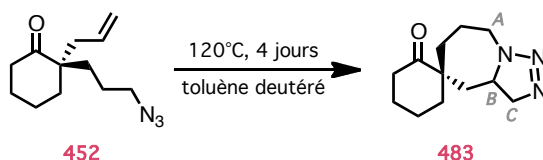


Schéma 135 : Cycloaddition avec le substrat cyclohexanone porteur de la chaîne allyl

Pour accéder à des spiroimines comportant un cycle à sept chaînons, la cycloaddition a été réalisée sur le composé **484** présentant une chaîne alkyle à 4 carbones et synthétisé avec un bon rendement de 86 % à partir du céto-allyl **459**. Après 9 jours au reflux du toluène, la moitié seulement du produit de départ **484** a été consommée. Il aura fallu attendre 20 jours pour que la conversion soit totale. Ici encore la formation majoritaire de la triazoline **485** semble plus probable que celle de la spiroimine **482**. Sur le spectre RMN ^1H , un doublet caractéristique du groupement méthyl A est visible à 1,6 ppm, le proton B situé en α du méthyl apparaît vers 4,1 ppm comme un quintuplet et le proton C forme un doublet à 3,4 ppm. Cette triazoline se décomposant aussi sur colonne de silice, les analyses complémentaires non pas pu être effectuées.

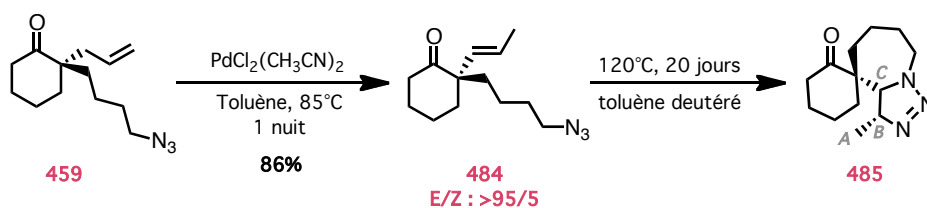


Schéma 136 : Isomérisation et cycloaddition avec la chaîne alkyle à 4 carbones

Ces premiers essais de synthèse de spiroimines-6,7 n'ont pas conduit aux résultats espérés. Les cycloadditions avec l'alcène exocyclique sont lentes et seules les triazolines **483** et **485** ont été observées. De ce fait, dans le cas d'une compétition possible entre deux oléfines, comme avec le composé **469**, on comprend alors aisément la régiosélectivité totale pour l'alcène endocyclique.

Toutes les études autour des étapes d'isomérisation et de cycloaddition pourront par la suite être envisagée sur le thioéther **456**, le furane **457** et les cétones **453** et **454** puisque les substrats ont été obtenus après les ADcs.

III. Conclusion

Au cours de nos travaux, les préparations des β -cétoesters **434** et **438** ont été réalisées grâce à deux étapes consécutives : l'acylation des cétones **423** et **486** puis l'alkylation des β -cétoesters **424** et **487** par l'iodoalkyle **430** (Schéma 137). Par la suite, l'ADc asymétrique a été réalisée dans du toluène avec le ligand (*S*)-*t*-BuPHOX **210**, pour synthétiser l'énone **446** et le composé **452**. Finalement, après une étape d'isomérisation, la réaction de cycloaddition-1,3 dipolaire, entre la fonction azoture et l'alcène exocyclique, a permis de former les spiroimines **472** et **480**.

Cette méthode est très rapide car en 5 étapes seulement, les spiroimines **472** et **480** ont pu être synthétisées avec des rendements globaux respectifs de 17,6 % et de 7,4 %, sans qu'aucun groupement protecteur n'ait été nécessaire. D'autre part, malgré la formation conjointe de la triazoline **473**, la présence de l'insaturation endocyclique présentent plusieurs avantages. En effet, elle permet d'augmenter les rendements à chaque étape ainsi que la vitesse de la réaction de cycloaddition mais elle permet surtout d'améliorer la stabilité de l'imine finale.

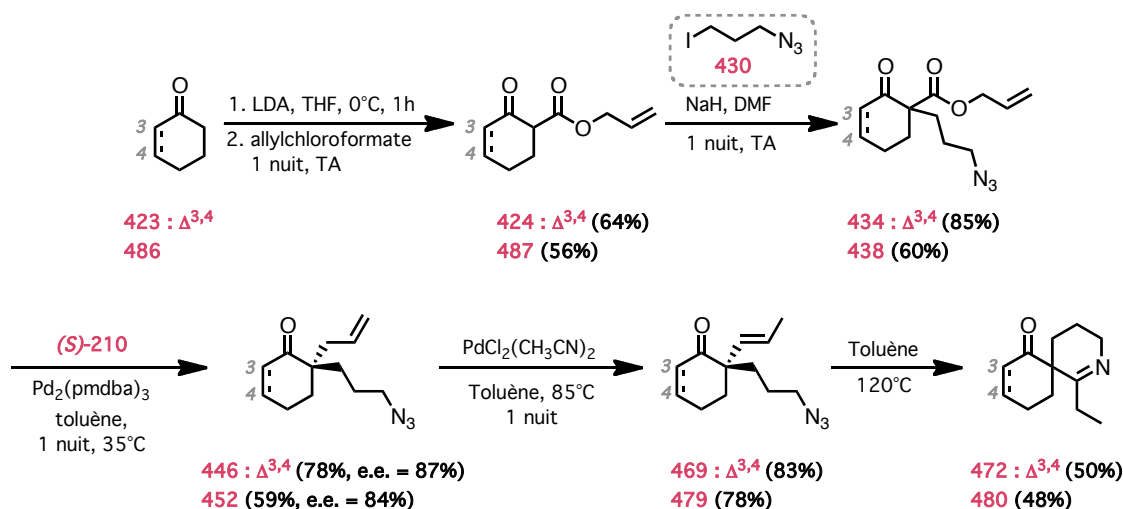


Schéma 137 : Récapitulatif de la synthèse des spiroimines **472** et **480**

Finalement, la généralisation de la méthode a permis de synthétiser différents β -cétoesters allylés mais l'étude de leur transformation en spiroimines est encore en cours au laboratoire.

Durant la synthèse d'analogues, l'idée de former des spiroimines-6,7 a aussi été envisagée. Toutefois la cycloaddition a lieu rapidement sur l'insaturation endocyclique du composé **446**, conduisant exclusivement à la triazoline **478**. Avec le cycle saturé, plus aucune compétition n'est possible, mais la réaction est lente et ne semble conduire, après 4 jours, qu'à la triazoline **483**, précurseur possible de la spiroimine désirée.

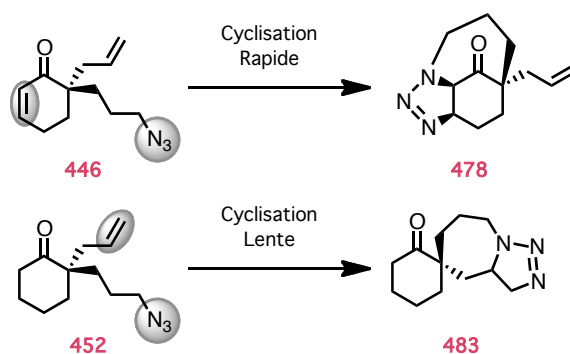


Schéma 138 : Bilan des cycloadditions sur les composés non isomérisés

Cette approche présente un très fort potentiel, notamment pour l'accès aux spiroimines-6,6, mais beaucoup de travail reste encore à faire. Son application pour la synthèse totale de la GYM A **8a** serait tout à fait envisageable en utilisant la (R)-*t*-BuPHOX et permettrait de former rapidement le centre quaternaire du motif spiroimine.

Dans le cas où les cycloadditions ne donnent pas les spiroimines désirées, une autre stratégie, plus conventionnelle, pourrait alors être envisagée en effectuant le clivage de l'alcène exocyclique **488** de façon à obtenir une fonction aldéhyde **489** (Schéma 139). Cette dernière serait transformée en méthyl-cétone **491** pour pouvoir se cycliser par une réaction de Staudinger.

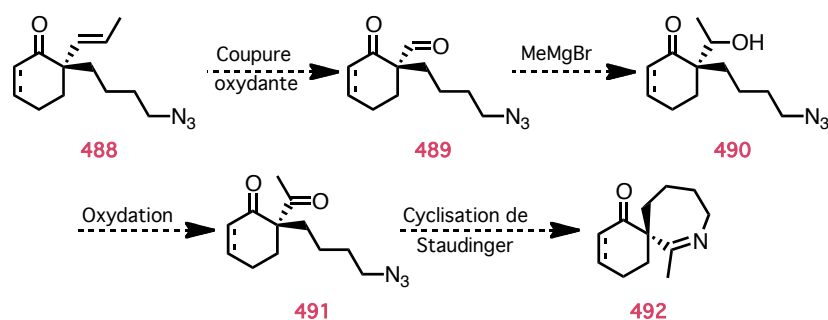


Schéma 139 : Autre stratégie possible pour former les spiroimines

Chapitre 5 : Évaluations biologiques des spiroimines synthétisées

Chapitre 5 : Évaluations biologiques des spiroimines synthétisées

I. Avant propos

I. 1. Activité biologique de la (-)-gymnodimine A

Au début de ce manuscrit, les propriétés biologiques de la (-)-gymnodimine A **8a** ont été abordées (Figure 32). Cette molécule a montré une très forte toxicité chez la souris avec une valeur de LD₅₀ de 96 $\mu\text{mol.kg}^{-1}$ par injection intrapéritonéale et de 755 $\mu\text{mol.kg}^{-1}$ par administration orale.¹⁷

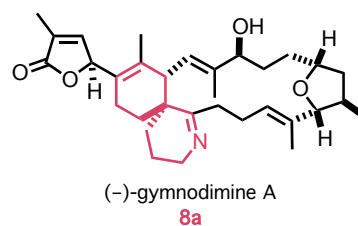


Figure 32 : Structure de la GYM A

Récemment, des études complémentaires ont montré que cette phycotoxine était capable de se lier et de bloquer différents sous-types de récepteurs nicotiniques à l'acétylcholine, qu'ils soient de type neuronaux ou musculaires.⁸⁶ La cible biologique a pu être confirmée par des études de co-cristallisation avec l'AChBP, mettant conjointement en évidence les éléments structuraux essentiels pour l'interaction entre la toxine et le récepteur.⁸⁹ Parmi eux, l'imine protonée de la (-)-gymnodimine A **8a** assure la liaison hydrogène avec l'oxygène du carbonyle du Trp 147 de la protéine, corroborant ainsi l'hypothèse selon laquelle le motif spiroimine serait le ou l'un des pharmacophores de la molécule.

L'enregistrement des courants nicotiniques transitant à travers les membranes cellulaires, peut être réalisé par une technique d'électrophysiologie appelée patch-clamp.²⁸⁴ Pour pouvoir utiliser cette technique, des membranes électriques, riches en nAChRs musculaires $\alpha_1\beta\gamma\delta$, sont extraites de la raie électrique *Torpedo marmorata* et des ovocytes sont prélevés, par voie chirurgicale, sur des grenouilles *Xenopus laevis*. Une suspension de membrane est alors injectée dans les ovocytes de façon à transplanter les nAChRs $\alpha_1\beta\gamma\delta$ dans les cellules. L'injection de cADN, codant pour les récepteurs $\alpha_4\beta_2$ humains, peut aussi être réalisée de façon à étudier les récepteurs neuronaux.¹⁷

²⁸⁴ (a) Tammara, P.; Shimomura, K.; Proks, P. *Methods Mol Biol.*, **2008**, 491, 127-139. (b) Kornreich, B. G. *J. Vet. Cardiol.* **2007**, 9, 25-37.

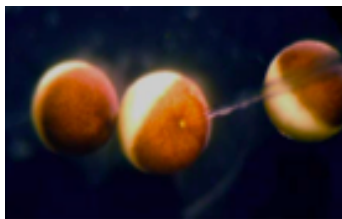


Figure 33 : Injection d'une suspension de membrane de Torpille dans les ovocytes de Xénope

Au cours d'une analyse électrophysiologique, une microélectrode remplie d'une solution de composition connue est maintenue à un potentiel constant. La mise en contact de cette microélectrode avec la membrane porteuse des récepteurs permet d'activer les récepteurs et de faire circuler les ions. Ceci crée un courant nicotinique qui est mesuré et enregistré.

Cette technique a permis d'évaluer les IC_{50} de la GYM A sur deux sous-types de nAChRs.⁸⁹ Que ce soit sur les récepteurs neuronaux $\alpha 4\beta 2$ ou sur les récepteurs musculaires $\alpha 1_2\beta\gamma\delta$, les IC_{50} ont été de l'ordre du nanomolaire avec respectivement 0,9 et 2,8 nM. À l'état de repos, les nAChRs présents sur la membrane sont fermés (Figure 34). Aucun ions ne circulent et la valeur du courant est alors nulle (étape 1). Lorsque que l'on perfuse la membrane avec de l'ACh, le canal s'ouvre permettant alors le passage des ions. Une valeur de courant est alors mesurée sur le chromatogramme (étape 2). Peu à peu le récepteur se désensibilise et revient à l'état de repos. Après quelques secondes, une injection conjointe de GYM A et d'ACh est effectuée. La valeur maximale du courant nicotinique mesurée est alors bien plus faible que celle obtenue avec l'ACh, ce qui est caractéristique d'une activité antagoniste (étape 3). Enfin après rinçage de la membrane, une nouvelle perfusion d'ACh permet de retrouver l'amplitude maximale du courant nicotinique. La GYM A ne bloque donc pas de façon irréversible le récepteur dans son état ouvert (étape 4).

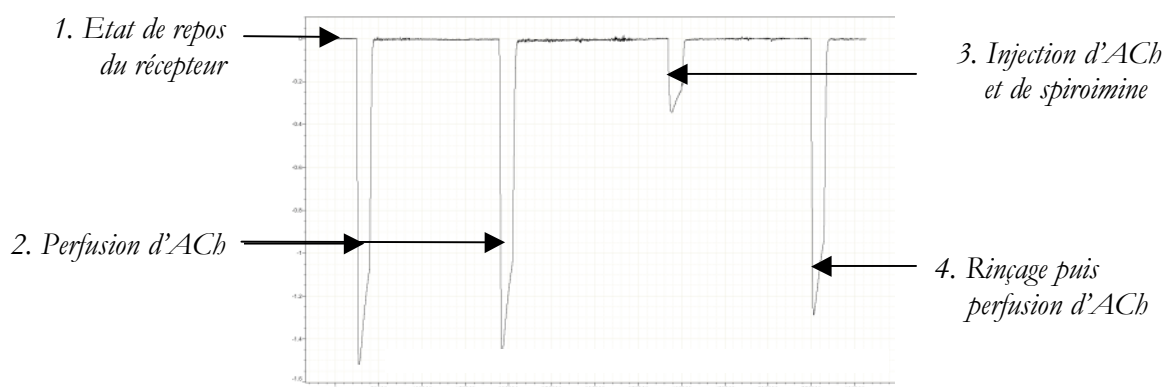


Figure 34 : Enregistrement du courant nicotinique

L'expérience a été renouvelée pour différentes concentrations en GYM A. À chaque fois, le courant nicotinique maximum est mesuré et la courbe représentative de ces courants en fonction de la concentration permet d'en déduire les valeurs d' IC_{50} désirées (Figure 35).⁸⁹

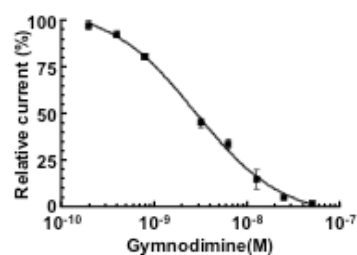


Figure 35 : Détermination de l' $IC_{50} = 2,8 \pm 1,15$ nM de la GYM A sur les récepteurs de torpille $\alpha 1_2\beta\gamma\delta$

I. 2. Résultats biologiques des spiroimines-6,6

Compte-tenu de l'importance du coeur spiroimine, nous avons réalisé la synthèse énantiosélective de spiroimines-6,6 (Figure 36). La création du centre quaternaire par réaction de Tsuji-Trost nous a permis d'isoler les spiroimines **150** et **303** dont l'alcool allylique est soit libre (**303**) soit protégé par un groupe silylé (**150**). D'autre part, la création du centre quaternaire par allylation décarboxylante asymétrique nous a permis de synthétiser rapidement la spiroimine **472**.

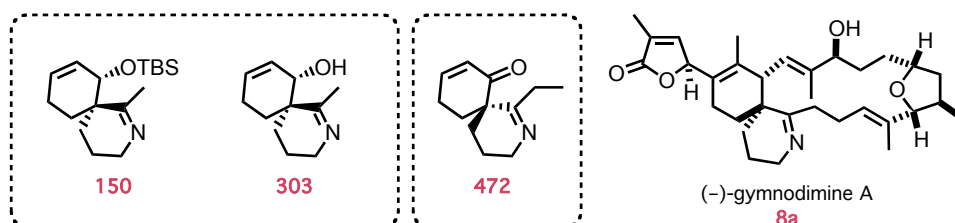


Figure 36 : Trois spiroimines-6,6 analogues à celle contenue dans la (-)-gymnodimine A

L'activité biologique de ces trois spiroimine-6,6, analogues à celle de la GYM A **8a**, ont alors pu être évaluées par l'équipe du Dr. Jordi Molgò, de manière à montrer pour la première fois, la véritable influence de l'imine dans l'interaction avec les récepteurs nicotiniques.

I.2.1. Études des spiroimines modèles **150** et **303**

Pour déterminer si le motif spiroimine-6,6 joue un rôle dans l'interaction entre la GYM A et les nAChRs, les évaluations biologiques ont d'abord été réalisées grâce à la technique du patch-clamp avec des oocytes de *Xénope* exprimant le récepteur nicotinique humain $\alpha 4\beta 2$ (Figure 37). Les tests ont été réalisés, à chaque fois, avec les spiroimines racémiques **150** et **303** et avec les spiroimines énantiomériquement enrichies de configuration absolue (R) (e.r. 91 : 9, e.e. = 82 %).

Dans un premier temps, l'oocyte a été perfusé pendant 4 secondes avec 150 μM d'ACh, ce qui permet d'obtenir le pic d'amplitude maximale correspondant à l'ouverture du canal par l'ACh et aux passage des ions (courbe noire). Les nAChRs se désensibilisent alors peu à peu pour retrouver leur état initial. Dans un second temps, la même expérience a été réalisée avec la spiroimine OTBS (\pm)-**150**, injectée seule à une concentration de 2 μM (Figure 2A). Aucun courant nicotinique n'a alors été engendré, ce qui montre que cette molécule ne présente pas d'effet agoniste. En revanche, une activité antagoniste existe car l'injection conjointe de 2 μM de spiroimine et de 150 μM d'ACh, réduit l'amplitude du pic et modifie la cinétique du courant nicotinique (courbe rouge). Après 150 s de lavage pour tenter d'éliminer la spiroimine du récepteur, la cinétique retrouve alors une allure similaire au contrôle (courbe bleue) mais l'amplitude du pic reste bloqué à 31,2 % du courant maximum. Cette caractéristique illustre l'effet bloquant du motif spiroimine (\pm)-**150** dans les nAChRs.

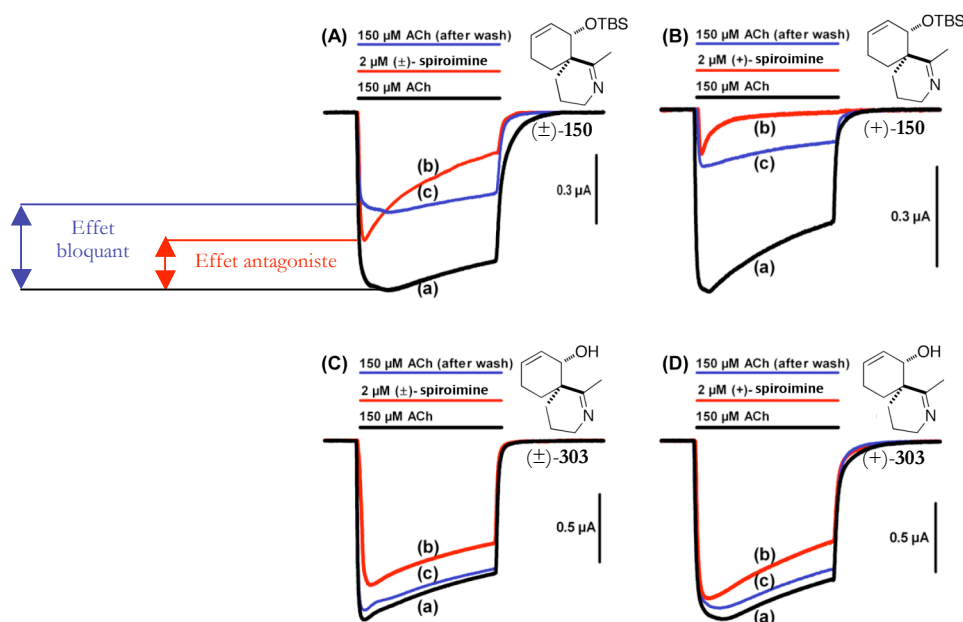


Figure 37 : Effet des spiroimines 150 et 303 racémiques et optiquement actives sur les nAChRs humain $\alpha 4\beta 2$

La même molécule (+)-**150**, énantiomériquement enrichie (e.e. = 82 %, e.r. = 91/09), montre les mêmes particularités mais l'effet bloquant est encore plus prononcé puisque 89 % du courant maximum est inhibé (Figure 2B).

De la même façon, l'activité biologique de l'alcool allylique **303** a été évaluée sur les récepteurs $\alpha 4\beta 2$. La présence de 2 μM de spiroimine, racémique ou énantiomériquement enrichie (e.e. = 82 %, e.r. = 91/09), avec 150 μM d'ACh montre un effet antagoniste faible de ces substrats. En revanche, cette fois-ci aucun effet bloquant n'a été visualisé car les cinétiques des différentes courbes sont inchangées et l'amplitude des courbes bleues après lavage ne sont que très peu modifiées par rapport aux courbes de contrôle noires (Figure 2C et 2D).

La présence du groupe silylé semble affecter l'activité biologique puisque une différence notable de cinétique, dans le courant nicotinique induit, a été enregistrée entre les composés **150** et **303**. Le changement de cinétique peut s'expliquer par le fait que la molécule **150** pourrait s'introduire dans le canal une fois celui-ci ouvert grâce à la présence de l'ACh ou alors qu'elle pourrait changer la cinétique de désensibilisation du récepteur.

Les spiroimines (+)-**150**, (+)-**303** et (\pm)-**303** ont ensuite été testées avec des oocytes exprimant à leur surface des nAChRs musculaires $\alpha 1_2\beta\gamma\delta$ (Figure 38). Avec chacun des substrats, l'expérience a été réalisée sur 5 à 8 oocytes, provenant d'au moins trois donneurs différents, de façon à indiquer une valeur moyenne pour chaque colonne du graphique.

La spiroimine OTBS (+)-**150** montre un effet bloquant très important comparé aux spiroimines **303** à la fois sur les récepteurs $\alpha 1_2\beta\gamma\delta$ et $\alpha 4\beta 2$. Il faut également noter la relative sélectivité de l'alcool allylique **303** pour un sous-type de récepteur, puisque une faible activité est visualisée sur les récepteurs neuronaux $\alpha 4\beta 2$ contrairement aux récepteurs musculaires $\alpha 1_2\beta\gamma\delta$.

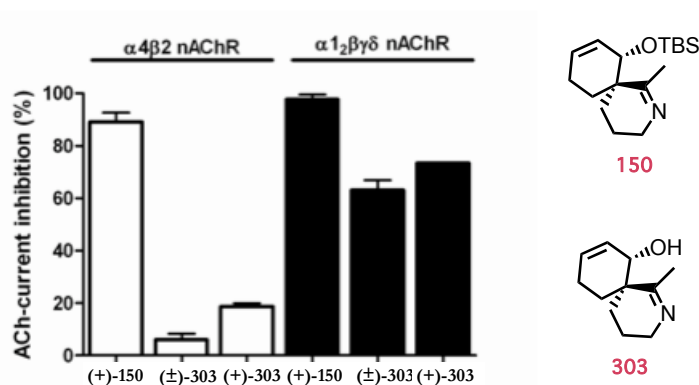


Figure 38 : Inhibition du courant nicotinique par les spiroimines **150** et **303** sur les récepteurs $\alpha 4\beta 2$ et $\alpha 1_2\beta\gamma\delta$

1.2.2. Études de la spiroimine modèle 472

La spiroimine **472** a fait l'objet d'une étude de compétition avec l' α -bungarotoxine (α -BTX), un des antagonistes connus des nAChRs. Cette molécule possède une configuration absolue opposée à la molécule naturelle, mais semble tout de même avoir un effet antagoniste sur les nAChRs (Figure 39).

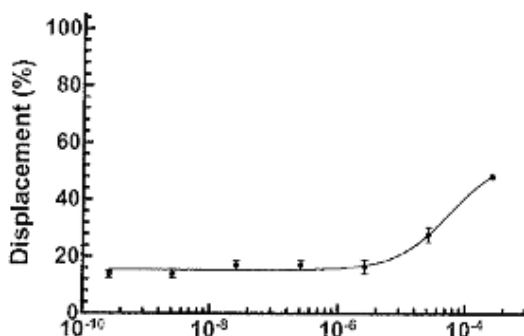
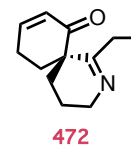


Figure 39 : Etude de compétition entre l' α -BTX et la spiroimine **472**

En effet, les résultats préliminaires de compétition avec l' α -BTX ont montré que ce composé avait la capacité de déplacer en partie l'antagoniste (α -BTX) du site actif. Des études complémentaires sont encore en cours pour confirmer cette activité antagoniste.

II. Conclusion

Les spiroimines OTBS **150** et OH **303**, présentent respectivement une activité bloquante et antagoniste sur les récepteurs nicotiques neuronaux $\alpha 4\beta 2$ et musculaires $\alpha 1_2\beta\gamma\delta$, mais aucun effet agoniste. La spiroimine **150** apparaît même plus antagoniste que son homologue déprotégé **303** et semble pouvoir bloquer le canal contrairement à la spiroimine **303**. À chaque fois, les variations d'activité n'ont pas été très importantes entre la molécule racémique et le mélange optiquement actif, mais on peut distinguer néanmoins une légère baisse d'activité avec le racémique. De la même façon, les premiers résultats de compétition entre la spiroimine **472** et l' α -BTX, semblent indiquer que cette spiroimine, de configuration absolue opposée à la molécule naturelle, présente elle aussi une activité antagoniste.

Pour la première fois, nous avons montré par des études biologiques que le motif spiroimine, isolé du reste de la structure de la toxine avait une activité antagoniste, comme la molécule naturelle. Ceci confirme l'hypothèse selon laquelle cet élément structural est essentiel pour l'activité biologique des gymnodimines **8a**, **8b** et **8c**. Il a ainsi été établi que le coeur spiroimine des gymnodimines pouvaient être considéré comme l'un des pharmacophores de cette famille de toxine.

Conclusion générale et perspectives

Conclusion générale et perspectives

La (-)-gymnodimine A **8a** est une phycotoxine marine de structure complexe qui présente un cœur spiroimine original. L'ensemble du travail présenté dans ce manuscrit a donc été consacré à des études sur la synthèse de ce motif particulier qui semble conférer à la molécule naturelle son activité biologique.

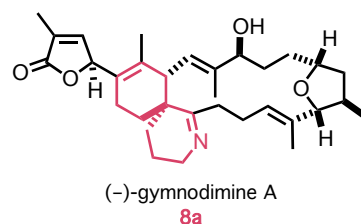


Figure 40 : Structure de la GYM A

- Les deux premiers chapitres exposent le contexte bibliographique dans lequel s'inclut ce travail. Le chapitre 1 présente les différentes phycotoxines de la famille des spiroimines ainsi que leurs propriétés biologiques, tandis que le chapitre 2 fait un bilan des différentes approches synthétiques envisagées à ce jour.
- Au cours de ce travail, deux voies d'accès aux motifs spiroimines ont été développées. Le chapitre 3 est consacré à la formation du centre quaternaire *via* une réaction de Tsuji-Trost et le chapitre 4 explore une nouvelle approche synthétique basée sur les allylations décarboxylantes asymétriques.
- Le chapitre 5 présente les premiers résultats biologiques des spiroimines synthétisées sur les nAChRs neuronaux $\alpha 4\beta 2$ et musculaires $\alpha 1_2\beta\gamma\delta$.

✓ Application de la réaction de Tsuji-Trost pour la synthèse de spiroimines

Dans le chapitre 3, nos recherches se sont focalisées sur l'étude de la réaction de Tsuji-Trost de façon à introduire le centre asymétrique du motif spiroimine, dès les premières étapes de synthèse. Les conditions d'allylation, appliquées au β -cétoester **231**, ont déjà été décrites dans la littérature. Elles nous ont permis de synthétiser le céto-allyl **232** avec un bon rendement de 88 % et un excès énantiomérique de 84 % (Schéma 140). La fonctionnalisation de la chaîne allyl par hydroboration/oxydation puis la lactonisation en milieu basique a conduit à la spirolactone **302** avec un rapport diastéréoisomérique de 80/20. Toutefois, la dégradation rapide de la lactone **302** sur la silice ne nous a pas permis de poursuivre la synthèse vers la spiroimine avec ce substrat.

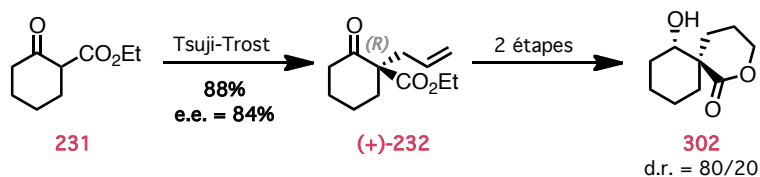


Schéma 140 : Réaction de Tsuji-Trost et synthèse de la spirolactone 302

Notre regard s'est alors tourné vers le β -cétoester **241**. L'optimisation de la réaction de Tsuji-Trost sur ce nouveau composé nous a permis de synthétiser le céto-allyl **242** avec un bon rendement de 87 % et un excès énantiomérique de 82 % (Schéma 141). Il a d'ailleurs été vérifié que l'emploi du ligand (*S,S*)-DACH phényle **212**, conduisait bien au produit **242** dans sa configuration absolue *R*, comme c'est le cas dans la molécule naturelle **8a**. Par la suite, face à la faible réactivité de la chaîne allyl vis à vis des conditions d'hydroboration, nous nous sommes orienté vers une séquence de métathèse croisée puis d'oxydation. Cette alternative nous a alors permis d'atteindre la spiroimine **150** en 9 étapes, avec un rendement global de 9,9 % ainsi que la spiroimine **303** après la déprotection du groupement silylé en milieu acide avec un excellent rendement de 92 %.²⁸⁵

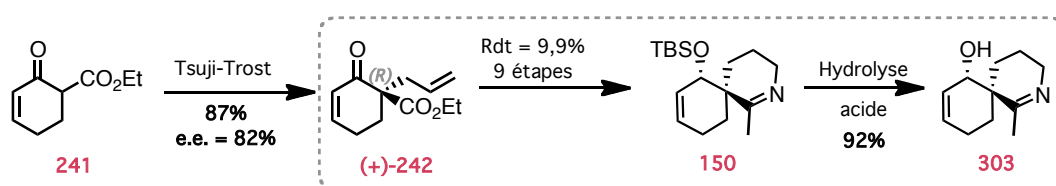


Schéma 141 : Réaction de Tsuji-Trost et synthèse des spiroimines **150** et **303**

Au cours de ces expériences sur les β -cétoesters **231** et **241**, une constatation importante a pu être mise en évidence. La présence de l'oléfine endocyclique semble conférer une stabilité accrue aux spiro lactones intermédiaires ainsi qu'aux spiroimines finales.

✓ Synthèse de spiroimines porteuses de la fonction acétal

En parallèle de ces travaux, des voies d'accès aux spiroimines **130** et **239** ont aussi été explorées. La séquence de métathèse croisée/oxydation s'est une nouvelle fois distinguée et a permis de synthétiser l'aldéhyde **312** (Schéma 142). Ce dernier a pu être transformé en azoture **315** en trois étapes mais l'échec de la réduction de l'ester éthylique nous a contraint à abandonner cette approche.

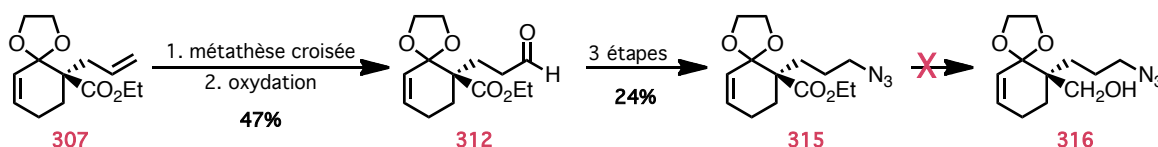
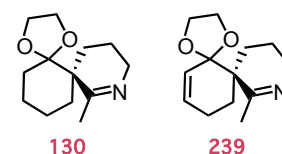


Schéma 142 : Séquence de métathèse croisée/oxydation sur les substrats protégés par une fonction acétal

²⁸⁵ Duroure, L.; Jousseume, T.; Araoz, R.; Barre, E.; Retailleau, P.; Chabaud, L.; Molgo, J.; Guillou, C. *Org. Biomol. Chem.* **2011**, doi : 10.1039

Dans le futur, il sera donc envisagé de réduire l'ester éthylique directement sur l'allyl **307**, à l'aide d'un réducteur comme LiAlH_4 , puis de transformer l'alcool obtenu en méthylcétone. Alors la fonctionnalisation de la chaîne allyl en azoture pourra être tentée et la réaction de Staudinger conduira aux spiroimines **130** et **239** désirées.

✓ Synthèse de spiroimines fonctionnalisées

Dans un objectif de synthèse totale, l'obtention d'une spiroimine plus fonctionnalisée est primordiale. Pour y parvenir quatre substrats différents ont été synthétisés puis soumis aux conditions de la réaction de Tsuji-Trost. L'un d'entre eux s'est particulièrement démarqué puisque le thioéther **345** a pu être synthétisé avec un rendement de 73 % et un excès énantiomérique de 83 % même à l'échelle du gramme. Du méthanolate de sodium fraîchement préparé a permis la conversion du thioéther **345** en éther d'énol **346** avec d'excellent rendement, tout en conservant l'excès énantiomérique.

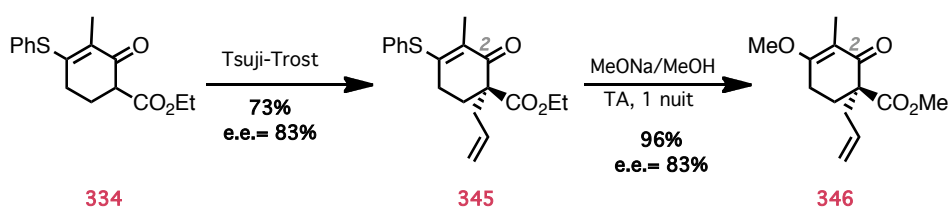


Schéma 143 : Réaction de Tsuji-Trost et synthèse du thioéther 345

Un composé tel que **346** permettrait l'addition d'un silyloxyfurane sur l'éther d'énol de manière à introduire le motif buténolide présent sur la GYM A **8a**. D'autre part, la présence de la chaîne allyl et de l'ester méthylique permettrait d'assurer la formation du cycle contenant l'imine grâce à la méthodologie que l'on a développée sur les substrats modèles.

Une seule incertitude subsiste encore quant à la fonctionnalisation au niveau de la cétone. En effet, nous voudrions insérer en position 2 un iodure de vinyl qui permettrait de lier la chaîne furanique, synthétisée par l'équipe de Y. Landais. Actuellement, les résultats préliminaires n'ont malheureusement pas donné de résultats convaincants, que ce soit avec les réactions de Corey-Chaykovski ou les additions de 1,3-dithiane ou d'alcyne.

✓ Synthèse de spiroimines-6,6 par allylation décarboxylante asymétrique

Dans le chapitre 4, nos efforts se sont focalisés sur les réactions d'allylation décarboxylantes asymétriques, version intramoléculaire de la réaction de Tsuji-Trost, qui nous ont permis d'atteindre en seulement 3 étapes les motifs spiroimines **472** et **480** désirés.

À partir des β -cétoesters **434** et **438**, il a été possible d'isoler les cétoallyls **446** et **452**, issu de l'étape d'ADc, avec de bons excès énantiomériques de respectivement 87 et 84 %. Une réaction d'isomérisation, catalysée par le Pd^0 a permis d'obtenir les alcènes **469** et **479** qui ont été engagés directement dans une cycloaddition 1,3-dipolaire entre l'oléfine exocyclique et l'azoture. Dans le cas du composé **469**, une compétition a lieu entre les deux oléfines conduisant à la synthèse simultanée de la triazoline **473**.

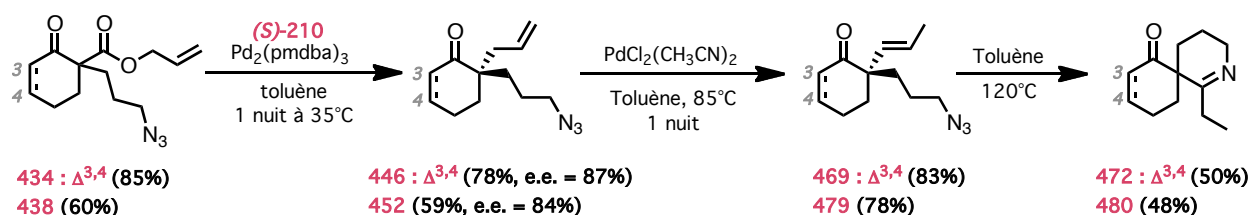


Schéma 144 : ADc et synthèse des spiroimines 472 et 480

Le peu d'étapes nécessaire à l'obtention de ces structures originales, nous a poussé à généraliser la méthode en formant d'autres β -cétoesters. La répétition des étapes d'ADc, d'isomérisation puis de cycloaddition devrait permettre d'atteindre rapidement plusieurs spiroimines différemment fonctionnalisés qui pourront être étudiés au niveau biologique.

✓ Résultats biologiques

Dans le chapitre 5, les spiroimines énantiomériquement enrichies ont pu être évaluées biologiquement par électrophysiologie.²⁸⁵ Les molécules **150** et **303** ne présentent aucune activité agoniste sur les récepteurs nicotiniques de type $\alpha 4\beta 2$ et $\alpha 1_2\beta\gamma\delta$ mais elles possèdent, par contre, des propriétés antagonistes. La spiroimine **150** montre même une activité plus importante que son analogue **303** et un effet bloquant conséquent. Le renouvellement de ces expériences à différentes concentrations de spiroimines devraient nous permettre d'obtenir des valeurs d' IC_{50} .

D'autre part, la spiroimine **472** plus stable que son analogue **480** a aussi été évaluée biologiquement. Bien que l'énantiomère majoritaire des spiroimines **472** et **480** n'est pas celui désiré pour accéder à la molécule naturelle **8a**, les premiers résultats de compétition entre la spiroimine **472** et l' α -BTX ont montré, malgré tout, une activité antagoniste de la spiroimine **472** sur les récepteurs nicotiniques.

Ces travaux de thèse ont donc permis de mettre en avant le potentiel de la réaction de Tsuji-Trost ou de l'allylation décarboxylante asymétrique pour une synthèse future de la (-)-gymnodimine A. En effet, cette cible de synthèse totale ambitieuse pourrait voir son coeur spiroimine construit grâce à l'une de ces réactions. D'autre part, les spiroimines synthétisées ont pu être évaluées sur les nAChRs. Malgré leurs structures simplifiées par rapport à la molécule naturelle, elles présentent une activité biologique. Ceci constitue donc la preuve que le motif spiroimine est l'un des pharmacophores de la GYM A.

Partie expérimentale

Experimental Part

I. Generality

I.1. Reagent and solvent purifications

All reactions were performed with anhydrous solvents, obtained either by distillation or directly bought with anhydrous grade from Sigma-Aldrich.

- tetrahydrofuran, diethyl ether and toluene were distilled over sodium and benzophenone
- methanol was distilled over iodine and magnesium
- dichloromethane was distilled over P_2O_5
- acetonitrile was distilled over CaH_2
- dimethylformamide was distilled under reduced pressure over $MgSO_4$

Most of the reagent were used without further purification except those mentionned below.

- allyl bromide was dried with $MgSO_4$ and fractionally distilled
- N,N,N',N' -tetramethylguanidine was dried with BaO and fractionally distilled under reduced pressure
- allyl acetate was dried with Na_2SO_4 and fractionally distilled
- diisopropylamine, triethylamine, 2,6-lutidine and pyridine were distilled over KOH
- *p*-toluene sulfonic acid was cristallized from HCl 1N and dried under high vacuum
- sodium acetate was cristallized from acetic acid and dried under high vacuum
- lithium bromide was cristallized from ethanol and dried under high vacuum
- TMEDA was distilled over sodium
- *t*BuOK was sublimated

According to the litterature, $Pd_2(pmdba)_3$ is prepared in two steps from $PdCl_2$ and *p*-methoxy-dibenzylideneacetone.²⁸⁶

Molecular sieves 3Å or 4Å was activated before utilisation by thermic method : heating at 200°C under high vacuum overnight.

For pallado-catalysed reactions, glass were washed with HCl 6N, water, ethanol and acetone and dried in oven. All sensitive reactions were performed under inert atmosphere.

Alkylolithiums were titrated according to Burchat's procedure with N-benzylamine.²⁸⁷

²⁸⁶ Rettig, M. F.; Maitlis, P. M.; Cotton, F. A.; Webb, T. R. In *Inorganic Syntheses*; Alan, G. M., Ed. 2007, p 134-137.

I.2. Chromatography technologies

Compounds were purified by flash chromatography on silica gel with Combiflash® companion system (pressure: 300 mbar). For high resolution and reproductibility, normal-phase packed Redisep® or Interchim® columns were used.

Reactions were monitored by TLC. Thin layer chromatography is performed on an aluminum foil, which is coated with a thin layer of silica gel (60 F₂₅₄). Usual methods for revelation were employed : ultraviolet light (with a wavelenght of 254nm or 365nm) or specific color reagents (like potasssium permaganate, phosphomolybdic acid, vanillin, draggendorf reagent).

I.3. Analyses instruments

NMR spectra were recorded on Bruker avance-300 or Bruker AC-500 machines with tetramethylsilane (TMS) as internal standard. Usually, compounds were dissolved in chloroform-d (CDCl₃) and sometimes in methanol-d (MeOD) or toluene-d₈ (C₆D₅CD₃). For ¹H NMR, the NMR spectroscopic data are given in parts per million (ppm). Coupling constant, usually denoted J, are given in units of hertz (Hz). Multiplicity are designed by abbreviation : singlet (s), broad singlet (brs), doublet (d), doublet of doublet (dd), doublet of doublet of doublet (ddd), doublet of doublet of doublet of doublet (dddd), triplet (t), doublet of triplet (dt), doublet of doublet of triplet (ddt), quartet (q), doublet of quartet (qd), quintet (quint.), multiplet (m). For ¹³C NMR, chemical shift are also expressed in parts per million (ppm) and the central signal of CDCl₃ as used as internal standard (δ= 77.0 ppm). Two-dimensional NMR spectra (COSY, HMQC and HMBC) provide more information for structure characterization. Numerotation of heteroatomes is unpredictable.

Mass data were obtained on a AUTOMASS ThermoFinnigan spectrometer with electrospray or electronebullisation ionisation and quadrupole mass filter. HRMS data were recorded either by LCT spectrometer (Waters) or by LCT Premier XE (Waters) with ESI ionisation and TOF analyser.

LCMS analyses were obtained on a LCT Premier XE apparatus (Waters). The components of the sample are ionized by electrospray (ESI) and ions are separated by a time of flight (TOF) analyzer in W form. Chromatographic system is composed by an Acquity UPLC (Waters) with gradient procedure : H₂O/ACN 95/5 to 100% ACN over 7min. Detection is possible thanks to an ultraviolet detector (UV) and a photodiode array detector (PDA).

Melting point were determined on a B540 Büchi melting point apparatus and were uncorrected.

²⁸⁷ Burchat, A. F.; Chong, J. M.; Nielsen, N. *Journal of Organometallic Chemistry* **1997**, 542, 281-283.

Optical rotary power was determined in a 10 cm cell on a JASCO P-1010 polarimeter. Samples are solubilized in chloroform and specific optical rotation are defined by the equation following : $[\alpha_D] = 100 \alpha / l c$ (α : angle in $^\circ$, l : path length in dm, c : sample concentration $c = 1 = 10 \text{ mg/mL}$)

Infrared spectra were recorded by a perkin Elmer FT-IR 100 spectrum spectrometer. Samples are analysed either in solid form, squeezed on a diamond, or in liquid form after solubilisation in dichloromethane.

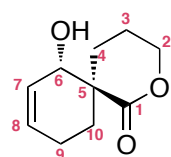
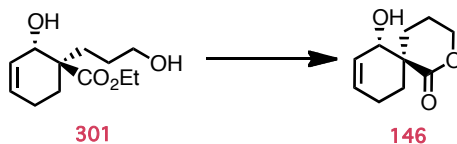
Reactions under microwaves were performed in a Discover[®] apparatus created by CEM society.

Enantiomeric excess measurements were obtained on a chiral HPLC composed by a waters 2695 separations module and a waters 996 photodiode array detector (PDA). Solvent and column will be precise for each compounds.

GCMS data were recorded by a QP2010 Shimadzu apparatus with electron (IE) or chemical ionization (positive CI or negative NCI) by using ammoniac or isobutane as gas reactant.

II. Experimental part of chapter 3

(6R,7S)-7-HYDROXY-2-OXASPIRO[5.5]UNDEC-8-EN-1-ONE **146**

**146**

Procedure :

The diol **301** (52.9 mg, 0.232 mmol, 1.00 equiv.) was dissolved in acetonitrile (3.00 mL) and DBU (41.0 μ L, 0.278 mmol, 1.20 equiv.) was added. The solution was stirred at room temperature for 7h then saturated NH_4Cl was added. The aqueous layer was extracted with EtOAc (x 3). The combined organic layers were washed with brine, dried over Na_2SO_4 and the solvent removed under vacuo. The crude mixture was purified through silica gel (heptane to heptane/EtOAc : 6/4) to afford a white solid **146** (31.6 mg, 75%)

M.S.(ESI, m/z)

205.1 $[\text{M}+\text{Na}]^+$

H.R.M.S.(ESI, m/z)

Calculated for $\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{O}_3\text{Na}^+$: 205.0841, found: 205.0834

I.R. $\nu(\text{cm}^{-1})$

3419 (ν_{OH}) ; 1693 ($\nu_{\text{C=O}}$ ester) ; 1260 ($\nu_{\text{C-O}}$) ; 1164 ($\nu_{\text{C-O}}$ alcohol) ; 1061 ($\nu_{\text{C-O}}$)

NMR ^1H (CDCl_3 , 300MHz)

$\delta(\text{ppm})$: 5.69 (dd, 1H, $J=9.8, 2.2\text{Hz}$, H_7) ; 5.55 (dd, 1H, $J=9.8, 1.6\text{Hz}$, H_8) ; 4.92 (s, 1H, H_6) ; 4.43-4.34 (m, 2H, H_2) ; 2.15-2.04 (m, 4H, $\text{H}_{10}, \text{H}_9$) ; 1.96-1.86 (m, 2H, H_4) ; 1.71-1.66 (m, 2H, H_3)

NMR ^{13}C (CDCl_3 , 75MHz)

$\delta(\text{ppm})$: 176.8 (C_Q, C_1) ; 129.6 (CH, C_8) ; 127.0 (CH, C_7) ; 71.2 (CH, C_6) ; 70.2 (CH_2, C_2) ; 46.8 (C_Q, C_5) ; 30.0 (CH_2) ; 21.4 (2CH_2) ; 21.1 (CH_2)

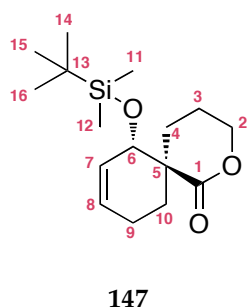
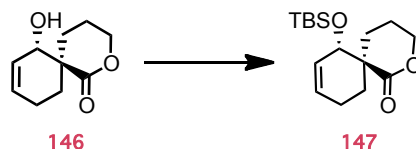
$[\alpha]_D^{25}$

+130.9 ($c = 0.202, \text{CHCl}_3$)

m.p.

97°C

**(6*R*,7*S*)-7-((*TERT*-BUTYLDIMETHYLSILYL)OXY)
-2-OXASPIRO[5.5]UNDEC-8-EN-1-ONE **147****

**Procedure :**

To a solution of allylic alcohol **146** (29.1 mg, 0.160 mmol, 1.00 equiv.) in dry dichloromethane (530 μ L) was added 2,6-lutidine (27.9 μ L, 0.240 mmol, 1.50 equiv.). The reaction mixture was cooled to 0°C and TBSOTf (40.3 μ L, 0.176 mmol, 1.10 equiv.) was added dropwise. The solution was stirred for 1 hour at room temperature and then quenched with a saturated solution of NH_4Cl . The aqueous layer was extracted with dichloromethane. The combined organic extracts were washed with water, brine and dried over MgSO_4 . The yellow residue was purified by flash chromatography (heptane to heptane/EtOAc 8/2) to give the protected alcohol as a yellow oil **147** (41.2 mg, 87%)

M.S. (ESI, m/z)319.2 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ **H.R.M.S.** (ESI, m/z)Calculated for $\text{C}_{16}\text{H}_{28}\text{O}_3\text{SiNa}^+$: 319.1705, found: 319.1700**IR** $\nu(\text{cm}^{-1})$ 1705 ($\nu_{\text{C=O}}$ ester) ; 1255 ($\nu_{\text{C-O}}$ ester) ; 833 ($\nu_{\text{Si=C}}$) ; 774 ($\nu_{\text{Si=C}}$)**NMR ^1H** (CDCl_3 , 300MHz)

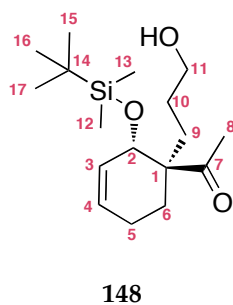
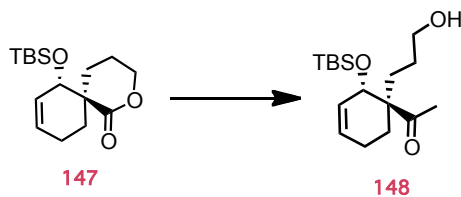
$\delta(\text{ppm})$: 5.63 (d, 1H, $J=10.5\text{Hz}$, H_7) ; 5.44 (d, 1H, $J=10.5\text{Hz}$, H_8) ; 4.83 (s, 1H, H_6) ; 4.39-4.27 (m, 2H, H_2) ; 2.17 (ddd, 1H, $J=14.0, 10.3, 3.7\text{Hz}$, H_4) ; 2.04-1.83 (m, 5H, $\text{H}_{10}, \text{H}_9, \text{H}_4$) ; 1.68-1.56 (m, 2H, H_3) ; 0.88 (s, 9H, $\text{H}_{16}, \text{H}_{15}, \text{H}_{14}$) ; 0.08 (s, 3H, H_{12}) ; 0.06 (s, 3H, H_{11})

NMR ^{13}C (CDCl_3 , 75MHz)

$\delta(\text{ppm})$: 176.3 (C_Q , C_1) ; 130.5 (CH, C_8) ; 126.2 (CH, C_7) ; 72.7 (CH, C_6) ; 70.2 (CH_2 , C_2) ; 47.1 (C_Q , C_5) ; 30.4 (CH_2) ; 25.8 (3CH_3 , $\text{C}_{14}, \text{C}_{15}, \text{C}_{16}$) ; 22.0 (CH_2) ; 21.4 (2CH_2) ; 17.9 (C_Q , C_{13}) ; -4.6 (CH_3 , C_{12}) ; -5.1 (CH_3 , C_{11})

 $[\alpha]_D^{25}$ +114.3 ($c = 0.222$, CHCl_3)

1-((1R,2S)-2-((*TERT*-BUTYLDIMETHYLSILYL)OXY)-1-(3-HYDROXYPROPYL)CYCLOHEX-3-EN-1-YL)ETHANONE **148**

**Procedure :**

To a solution of lactone **147** (31.8 mg, 0.107 mmol, 1.00 equiv.) in dry THF (360 μ L) at 0°C was added MeMgBr (229 μ L, 0.321 mmol, 3.00 equiv.) and the reaction mixture was allowed to warm to room temperature. After 2 hours, a saturated solution of NH₄Cl was added. The aqueous layer was extracted with dichloromethane. The combined organic extracts were washed with water, brine and dried over MgSO₄. The yellow residue was purified by flash chromatography (heptane to heptane/EtOAc 7/3) to give the methyl ketone **148** as a colorless oil (23.7 mg, 71%).

M.S. (ESI, m/z)335.2 [M+Na]⁺**H.R.M.S.** (ESI, m/z)Calculated for C₁₇H₃₂O₃SiNa⁺: 335.2018, found: 335.2021**I.R** ν (cm⁻¹)3388 (ν_{OH}) ; 1697 ($\nu_{C=O}$ ketone) ; 1250 (ν_{C-O}) ; 1052 (ν_{C-O} alcohol) ; 832 ($\nu_{Si=C}$) ; 772 ($\nu_{Si=C}$)**NMR** ¹H (acetone, 300MHz)

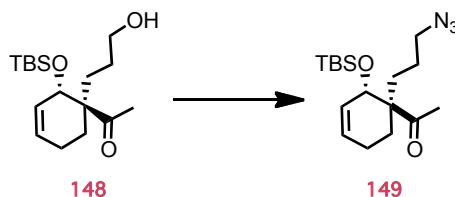
δ (ppm): 5.82-5.74 (m, 1H, H₄) ; 5.72-5.65 (m, 1H, H₃) ; 4.45 (d, 1H, J=4.1Hz, H₂) ; 3.59-3.52 (m, 1H, OH) ; 3.52-3.43 (m, 2H, H₁₁) ; 2.12 (s, 3H, H₈) ; 2.02-1.95 (m, 2H, H₆) ; 1.90-1.78 (m, 3H, H₉, H₅) ; 1.60 (td, 1H, J=12.3, 3.4Hz, H₉) ; 1.47-1.40 (m, 1H, H₁₀) ; 1.28-1.20 (m, 1H, H₁₀) ; 0.90 (s, 9H, H₁₇, H₁₆, H₁₅) ; 0.11 (s, 6H, H₁₃, H₁₂)

NMR ¹³C (acetone, 75MHz)

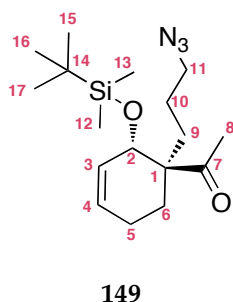
δ (ppm): 210.9 (C_Q, C₇) ; 130.4 (CH, C₄) ; 129.6 (CH, C₃) ; 67.6 (CH, C₂) ; 62.9 (CH₂, C₁₁) ; 56.2 (C_Q, C₁) ; 28.3 (CH₃, C₈) ; 26.7 (CH₂, C₆) ; 26.3 (3CH₃, C₁₇, C₁₆, C₁₅) ; 26.3 (CH₂) ; 26.1 (CH₂) ; 23.9 (CH₂) ; 18.7 (C_Q, C₁₄) ; -3.3 (CH₃, C₁₃) ; -4.5 (CH₃, C₁₂)

[α]_D²⁵+118.2 (c = 0.29, CHCl₃)

1-((1R,2S)-1-(3-AZIDOPROPYL)-2-((TERT-BUTYLDIMETHYLSILYL)OXY)CYCLOHEX-3-EN-1-YL)ETHANONE **149**

**Procedure :**

To a solution of alcohol **148** (63.3 mg, 0.202 mmol, 1.00 equiv.) in dry dichloromethane (2.00 mL) was added Et₃N (113 μL, 0.808 mmol, 4.00 equiv.), then methanesulfonyl chloride (62.5 μL, 0.808 mmol, 4.00 eq.) at 0°C. The mixture was stirred for 3h then a saturated solution of NH₄Cl was added. The aqueous layer was extracted with dichloromethane. The combined organic extracts were washed with water, brine and dried over MgSO₄. The crude mixture was dissolved in DMSO (2.00 mL) and NaN₃ (39.4 mg, 0.606 mmol, 3.00 equiv.) was added at room temperature. The mixture was stirred overnight at room temperature then brine was added. The aqueous layer was extracted with dichloromethane. The combined organic extracts were washed with water, brine and dried over Na₂SO₄. The residue was purified by flash chromatography (heptane to heptane/EtOAc 9/1) to give the desired alkyl azide **149** as a colorless oil (38.7 mg, 57%)

**M.S.**(ESI, m/z)360.2 [M+Na]⁺**H.R.M.S.** (ESI, m/z)Calculated for C₁₇H₃₁N₃O₂SiNa⁺: 360.2083, found: 360.2072**IR** ν(cm⁻¹)2093 (ν_{N3}) ; 1698 (ν_{C=O} ketone) ; 1250 (ν_{C-O}) ; 1054 (ν_{C-O} alcohol) ; 834 (ν_{Si=C}) ; 774 (ν_{Si=C})**NMR** ¹H (CDCl₃, 300MHz)

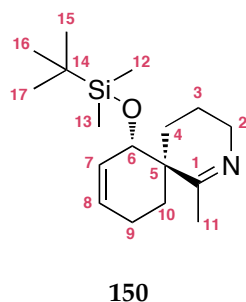
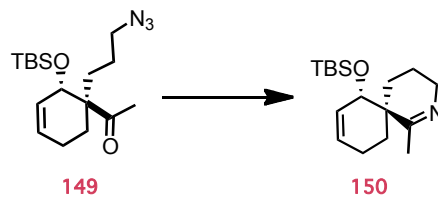
δ(ppm): 5.78-5.70 (m, 2H, H₄, H₃) ; 4.43 (d, 1H, J=3.8 Hz, H₂) ; 3.32 (ddd, 1H, J=12.1, 6.8, 5.3Hz, H₁₁) ; 3.20 (ddd, 1H, J=12.1, 7.1, 6.1Hz, H_{11'}) ; 2.14 (s, 3H, H₈) ; 2.08-1.94 (m, 2H, H₅) ; 1.92-1.87 (m, 1H, H₉) ; 1.87-1.84 (m, 2H, H₆) ; 1.59-1.54 (m, 2H, H₁₀) ; 1.38-1.30 (m, 1H, H_{9'}) ; 0.88 (s, 9H, H₁₇, H₁₆, H₁₅) ; 0.07 (s, 6H, H₁₃, H₁₂)

NMR ¹³C (CDCl₃, 75MHz)

δ(ppm): 211.5 (C_Q, C₇) ; 129.2 (CH, C₄) ; 128.9 (CH, C₃) ; 66.6 (CH, C₂) ; 55.5 (C_Q, C₁) ; 51.9 (CH₂, C₁₁) ; 30.1 (CH₂, C₆) ; 26.0 (CH₃, C₈) ; 25.9 (CH₂) ; 25.8 (3CH₃, C₁₇, C₁₆, C₁₅) ; 23.7 (CH₂) ; 23.1 (CH₂) ; 18.0 (C_Q, C₁₄) ; -0.35 (CH₃, C₁₃) ; -4.8 (CH₃, C₁₂)

[α]_D²⁵+103.8 (c = 0.340, CHCl₃)

(6*S*,7*S*)-7-((*TERT*-BUTYLDIMETHYLSILYL)OXY)-1-METHYL-2-AZASPIRO[5.5]UNDECA-1,8-DIENE **150**

**Procedure :**

To a solution of azide **149** (38.7 mg, 0.115 mmol, 1.00 equiv.) in a mixture THF/H₂O (*v/v* = 9/1) (1.00 mL) was added supported triphenylphosphine (1.60 mmol/g) (107.5 mg, 0.172 mmol, 1.50 equiv.). The mixture was stirred at RT overnight then filtered. The polymer was washed with CH₂Cl₂ and the solvent removed under vacuo. The crude mixture was purified over silica gel (DCM(1%NH₃)/MeOH : 100/0 to 95/5) to afford a colorless oil **150** (27.0 mg, 82%)

M.S. (ESI, *m/z*)

294.2 [M+H]⁺

H.R.M.S. (ESI, *m/z*)

Calculated for C₁₇H₃₂NOSi⁺: 294.2253, found: 294.2255

I.R. (cm⁻¹)

2927 (ν_{CHsp3}) ; 1649 (ν_{C=N}) ; 1253 (ν_{C-O}) ; 1093 (ν_{C-N}) ; 836 (δ_{CHsp2})

NMR ¹H (CDCl₃, 300MHz)

δ(ppm): 5.65 (dd, 1H, J=10.5, 1.9Hz, H₈) ; 5.48 (dd, 1H, J=10.5, 1.9Hz, H₇) ; 4.64 (s, 1H, H₆) ; 3.65-3.50 (m, 2H, H₂) ; 2.09 (s, 3H, H₁₁) ; 2.07-2.01 (m, 3H, H₁₀, H₉) ; 1.93-1.81 (m, 2H, H₄, H₉) ; 1.64-1.53 (m, 2H, H₃, H₄) ; 1.52-1.45 (m, 1H, H₃) ; 0.87 (s, 9H, H₁₇, H₁₆, H₁₅) ; 0.08 (s, 3H, H₁₃) ; 0.06 (s, 3H, H₁₂)

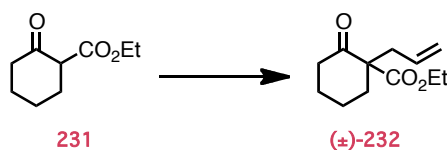
NMR ¹³C (CDCl₃, 75MHz)

δ(ppm): 171.9 (C_Q, C₁) ; 130.7 (CH, C₈) ; 126.8 (CH, C₇) ; 71.4 (CH, C₆) ; 49.8 (CH₂, C₂) ; 43.3 (C_Q, C₅) ; 29.7 (CH₂) ; 25.7 (3CH₃, C₁₇, C₁₆, C₁₅) ; 22.5 (CH₃, C₁₁) ; 22.2 (CH₂) ; 21.6 (CH₂) ; 19.9 (CH₂) ; 18.0 (C_Q, C₁₄) ; -3.9 (CH₃, C₁₃) ; -4.8 (CH₃, C₁₂)

[α]_D²⁵

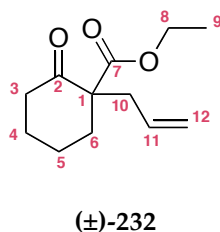
+ 81.0 (c = 0.210, CHCl₃)

ETHYL 1-ALLYL-2-OXOCYCLOHEXANECARBOXYLATE (\pm)-232



Procedure :

To a slurry of sodium hydride 60% (pentane-washed) (258 mg, 6.46 mmol, 1.1 equiv.) in DMF (6.00 mL) was added slowly ethyl 2-oxocyclohexanecarboxylate **231** (1.00 g, 5.87 mmol, 1.00 equiv.) at a rate to maintain a controlled evolution of hydrogen at 0°C. When gas evolution was complete, allyl bromide (680 μ L, 7.92 mmol, 1.35 equiv) was added at 0°C. The mixture was stirred overnight at room temperature, then quenched with water and extracted with diethyl ether. The combined organic extracts were washed with brine, water, dried over MgSO_4 , filtered and concentrated *in vacuo*. The resulting oil was purified by flash chromatography (heptane/AcOEt 90/10) on silica gel to give the allyl ketone (\pm)-**232** as a colorless oil (1.08 mg, 88 %).



M.S. (ESI, m/z)

233.1 $[\text{M}+\text{Na}]^+$
 265.1 $[\text{M}+\text{Na}+\text{MeOH}]^+$

H.R.M.S. (ESI, m/z)

Calculated for $\text{C}_{12}\text{H}_{18}\text{O}_3\text{Na}^+$: 233.1154 ; Found: 233.1149

I.R $\nu(\text{cm}^{-1})$

1711 ($\nu_{\text{C=O}}$) ; 1639 ($\nu_{\text{C=C}}$) ; 1198 ($\nu_{\text{C-O}}$) ; 916 (δ_{CHsp^2})

NMR ^1H (CDCl_3 , 300MHz)

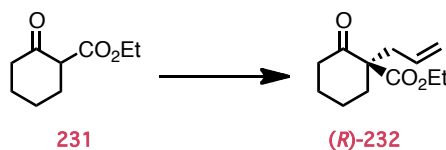
$\delta(\text{ppm})$: 5.72 (dddd, 1H, $J=17.9, 9.4, 7.4, 7.0\text{Hz}$, H_{11}) ; 5.10-5.01 (m, 2H, H_{12}) ; 4.20 (q, 2H, $J=7.1\text{Hz}$, H_8) ; 2.63 (dd, 1H, $J=13.9, 7.0\text{Hz}$, H_{10}) ; 2.55-2.42 (m, 3H, H_3, H_6) ; 2.35 (dd, 1H, $J=13.9, 7.8\text{Hz}$, $\text{H}_{10'}$) ; 2.09-1.97 (m, 1H, H_6') ; 1.83-1.41 (m, 4H, H_4, H_5) ; 1.27 (t, 3H, $J=7.1\text{Hz}$, H_9)

NMR ^{13}C (CDCl_3 , 75MHz)

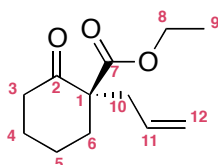
$\delta(\text{ppm})$: 207.5 (C_Q, C_2) ; 171.5 (C_Q, C_7) ; 133.3 (CH, C_{11}) ; 118.2 ($\text{CH}_2, \text{C}_{12}$) ; 61.2 (CH_2, C_8) ; 60.9 (C_Q, C_1) ; 41.1 (CH_2, C_3) ; 39.3 ($\text{CH}_2, \text{C}_{10}$) ; 35.8 (CH_2, C_6) ; 27.5 (CH_2, C_4) ; 22.5 (CH_2, C_5) ; 14.2 (CH_3, C_9)

Reference

Trost, B. M.; Shi, Y. *Journal of the American Chemical Society* **1993**, *115*, 9421-9438.

(S)-ETHYL 1-ALLYL-2-OXOCYCLOHEXANECARBOXYLATE (R)-232**Procedure :**

To a solution of allylpalladium chloride dimer (5.65 mg, 0.0150 mmol, 0.50 % mol) and (*S,S*)-DACH-phenyl Trost ligand (25.9 mg, 0.0370 mmol, 1.20 % mol) in toluene (5.00 mL) was added allyl acetate (500 μ L, 4.63 mmol, 1.50 equiv.). The initial clear yellow solution faded and became cloudy. 1,1,3,3-tetramethylguanidine (440 μ L, 3.51 mmol, 1.10 equiv.) was added and the mixture returned to a clear yellow solution. Ethyl-2-oxocyclohex-3-ene-1-carboxylate **231** (532 mg, 3.13 mmol, 1.00 equiv.) was added slowly and the reaction was stirred overnight at room temperature under nitrogen atmosphere. The reaction mixture was quenched with saturated aqueous NH_4Cl and the phases were separated. The aqueous phase was extracted with Et_2O . The combined organic extracts were washed with brine and water, dried over MgSO_4 , filtered and concentrated *in vacuo*. The resulting oil was purified by flash chromatography (heptane/ AcOEt 90/10) on silica gel to give the allyl ketone **(R)-232** as a uncoloured oil (577 mg, 88 %).

**(R)-232****M.S.** (ESI, m/z)

211.1 $[\text{M}+\text{H}]^+$
 233.1 $[\text{M}+\text{Na}]^+$
 265.2 $[\text{M}+\text{Na}+\text{MeOH}]^+$

H.R.M.S. (ESI, m/z)

Calculated for $\text{C}_{12}\text{H}_{16}\text{O}_3\text{Na}^+$: 233.1154 ; Found: 233.1147

I.R. $\nu(\text{cm}^{-1})$

1710 ($\nu_{\text{C=O}}$) ; 1639 ($\nu_{\text{C=C}}$) ; 1198 ($\nu_{\text{C-O}}$) ; 916 (δ_{CHsp^2})

NMR ^1H (CDCl_3 , 300MHz)

$\delta(\text{ppm})$: 5.76-5.60 (m, 1H, H_{11}) ; 5.10-5.01 (m, 2H, H_{12}) ; 4.12 (q, 2H, $J=7.1\text{Hz}$, H_8) ; 2.54 (dd, 1H, $J=13.9, 7.0\text{Hz}$, H_{10}) ; 2.46-2.35 (m, 3H, H_3 , H_6) ; 2.27 (dd, 1H, $J=13.9, 7.8\text{Hz}$, $\text{H}_{10'}$) ; 2.00-1.87- (m, 1H, H_6') ; 1.74-1.32- (m, 4H, H_4 , H_5) ; 1.18 (t, 3H, $J=7.1\text{Hz}$, H_9)

NMR ^{13}C (CDCl_3 , 75MHz)

$\delta(\text{ppm})$: 207.5 (C_Q , C_2) ; 171.5 (C_Q , C_7) ; 133.3 (CH , C_{11}) ; 118.2 (CH_2 , C_{12}) ; 61.2 (CH_2 , C_8) ; 60.9 (C_Q , C_1) ; 41.1 (CH_2 , C_3) ; 39.3 (CH_2 , C_{10}) ; 35.8 (CH_2 , C_6) ; 27.5 (CH_2 , C_4) ; 22.5 (CH_2 , C_5) ; 14.2 (CH_3 , C_9)

HPLC

Eluent: Heptane/*i*PrOH (95/5), column: IC 5 μm (4,6x250mm), injection volume: 10 μL , flow: 0.8 mL/min

(*S*) Enantiomere: Retention time: 9.2 min , Area: 8.1 %

(*R*) Enantiomere: Retention time: 10.1 min , Area: 91.9 %

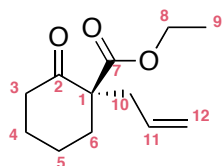
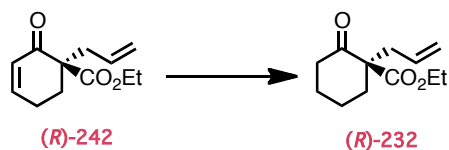
ee = 84%

 $[\alpha]_D^{25}$

+105.7 ($c = 0.212$, CHCl_3)

Reference

Trost, B. M.; Radinov, R.; Grenzer, E. M. *Journal of the American Chemical Society* **1997**, 119, 7879-7880.

(R)-ETHYL 1-ALLYL-2-OXOCYCLOHEXANECARBOXYLATE (R)-242**(R)-232****Procedure :**

To a solution of *(R)*-ethyl 1-allyl-2-oxocyclohex-3-enecarboxylate **(R)-242** (100 mg, 0.480 mmol, 1.00 equiv.) in THF (960 μ L) at -78°C , was added *L*-selectride (480 μ L, 0.480 mmol, 1.00 equiv.). After 1h at this temperature, the mixture was quenched with water and extracted with ethyl acetate. The combined organic extracts were washed with brine and water, dried over MgSO_4 , filtered and concentrated *in vacuo*. The resulting oil was purified by flash chromatography (heptane/AcOEt 90/10) on silica gel to give the allyl ketone **(R)-232** as a uncoloured oil (72.0 mg, 71 %).

HPLC

Eluent: Heptane/*i*PrOH (95/5), column: IC 5 μ m (4,6x250mm), injection volume: 10 μ L, flow: 1.0 mL/min

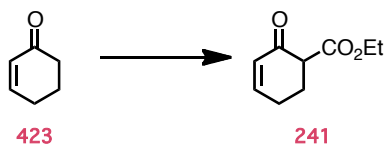
(S) Enantiomere: Retention time: 8.9 min , Area: 11.8 %

(R) Enantiomere: Retention time: 9.6 min , Area: 88.2 %

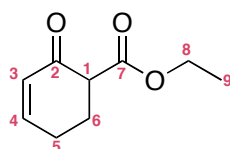
ee = 76%

 $[\alpha]_{\text{D}}^{25}$

+106.4 ($c = 0.232$, CHCl_3).

ETHYL-2-OXOCYCLOHEX-3-ENE-1-CARBOXYLATE **241****Procedure :**

To a cooled (-78°C) solution of diisopropylamine (175 μ L, 1.25 mmol, 1.20 equiv.) in anhydrous THF (2.60 mL), was added dropwise *n*-butyllithium (1.60 M in hexane, 1.04 mL, 1.25 mmol, 1.20 equiv.). The mixture was allowed to return to room temperature during 30 min then 2-cyclohexenone **423** (100 mg, 1.04 mmol, 1.00 equiv.) was added at -78°C and stirred for 30 min, then allyl chloroformate (113 μ L, 1.14 mmol, 1.10 equiv.) was added dropwise. The reaction mixture slowly warmed to room temperature overnight. The reaction mixture was quenched with saturated aqueous NH₄Cl and the phases were separated. The aqueous phase was extracted with EtOAc. The combined organic extracts were washed with brine and water, dried over MgSO₄, filtered and concentrated *in vacuo*. The resulting oil was purified by flash chromatography (heptane/AcOEt 100/0 to 60/40) on silica gel to afford the β -keto ester **241** as a yellow oil (144 mg, 82 %).

**M.S.** (ESI, m/z)

169.1 [M+H]⁺
 191.1 [M+Na]⁺
 223.1 [M+Na+MeOH]⁺

H.R.M.S. (ESI, m/z)

Calculated for C₉H₁₂O₃Na⁺: 191.0684 ; Found: 191.0675

I.R. ν (cm⁻¹)

1731 ($\nu_{C=O}$ ester) ; 1674 ($\nu_{C=O}$ ketone) ; 1619 ($\nu_{C=C}$) ; 1156 (ν_{C-O} ester)

NMR ¹H (CDCl₃, 300MHz)

δ (ppm): 7.01 (dt, 1H, J=10.2, 3.7Hz, H₄) ; 6.08 (dt, 1H, J=10.1, 1.9Hz, H₃) ; 4.23 (qd, 2H, J=7.2, 1.6Hz, H₈) ; 3.41 (dd, 1H, J=9.5, 5.1Hz, H₁) ; 2.59-2.15 (m, 4H, H₅, H₆) ; 1.29 (t, 3H, J=7.1Hz, H₉)

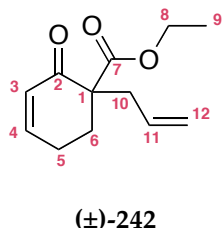
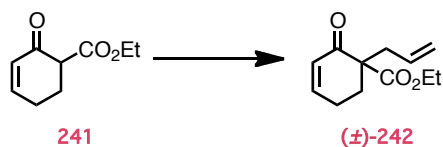
NMR ¹³C (CDCl₃, 75MHz)

δ (ppm): 193.8 (C_Q, C₂) ; 169.8 (C_Q, C₇) ; 150.5 (CH, C₄) ; 128.8 (CH, C₃) ; 61.0 (CH₂, C₈) ; 53.2 (CH, C₁) ; 25.5 (CH₂, C₆) ; 24.1 (CH₂, C₅) ; 13.9 (CH₃, C₉)

Reference

Poulsen, T. B.; Bernardi, L.; Aleman, J.; Overgaard, J.; Jorgensen, K. A. *Journal of the American Chemical Society* **2007**, *129*, 441-449.

ETHYL 1-ALLYL-2-OXOCYCLOHEX-3-ENECARBOXYLATE (\pm)-242



Procedure :

To a solution of allylpalladium chloride dimer (1.08 mg, 3.00 μ mol, 0.50 % mol) and triphenylphosphine (1.85 mg, 7.00 μ mol, 1.20 % mol) in toluene (1.00 mL) was added allyl acetate (95.2 μ L, 882 μ mol, 1.50 equiv.). 1,1,3,3-tetramethylguanidine (660 μ L, 5.26 mmol, 9.00 equiv.) and ethyl-2-oxocyclohex-3-ene-1-carboxylate **241** (98.9 mg, 588 μ mol, 1.00 equiv.) were added slowly and the reaction was stirred overnight at room temperature under nitrogen atmosphere. The mixture was quenched with water and extracted with ethyl acetate. The combined organic extracts were washed with brine and water, dried over MgSO_4 , filtered and concentrated *in vacuo*. The resulting oil was purified by flash chromatography (heptane/AcOEt 90/10) on silica gel to give the allyl ketone (\pm)-**242** as a colorless oil (53.4 mg, 44 %).

M.S. (ESI, m/z)

209.1 $[\text{M}+\text{H}]^+$
 231.1 $[\text{M}+\text{Na}]^+$
 263.1 $[\text{M}+\text{Na}+\text{MeOH}]^+$

H.R.M.S. (ESI, m/z)

Calculated for $\text{C}_{12}\text{H}_{16}\text{O}_3\text{Na}^+$: 231.0997 ; Found: 231.0987

I.R. $\nu(\text{cm}^{-1})$

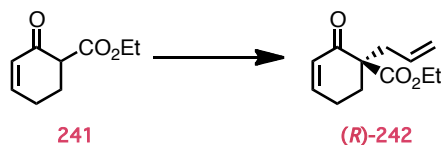
1726 ($\nu_{\text{C=O}}$ ester) ; 1678 ($\nu_{\text{C=O}}$ ketone) ; 1639 ($\nu_{\text{C=C}}$) ; 1622 ($\nu_{\text{C=C}}$) ; 1190 ($\delta_{\text{C-O}}$) ; 918 (δ_{CHsp^2} vinylic) ; 673 (δ_{CHsp^2})

NMR ^1H (CDCl_3 , 300MHz)

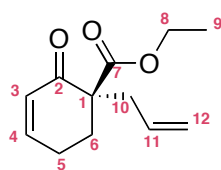
$\delta(\text{ppm})$: 6.88-6.80 (m, 1H, H_4) ; 5.97 (dt, 1H, $J=9.9, 3.9\text{Hz}$, H_3) ; 5.78-5.62 (m, 1H, H_{11}) ; 5.05 (m, 1H, H_{12}) ; 5.00 (m, 1H, $\text{H}_{12'}$) ; 4.10 (q, 2H, $J=7.1\text{Hz}$, H_8) ; 2.59 (dd, 1H, $J=13.9, 7.3\text{Hz}$, H_{10}) ; 2.46 (dd, 1H, $J=14.0, 7.3\text{Hz}$, $\text{H}_{10'}$) ; 2.45-2.18 (m, 3H, H_5, H_6) ; 1.94-1.83 (m, 1H, H_6') ; 1.16 (t, 3H, $J=7.1\text{Hz}$, H_9)

NMR ^{13}C (CDCl_3 , 75MHz)

$\delta(\text{ppm})$: 195.7 (C_Q, C_2) ; 171.1 (C_Q, C_7) ; 149.6 (CH, C_4) ; 133.3 (CH, C_{11}) ; 129.1 (CH, C_3) ; 118.7 ($\text{CH}_2, \text{C}_{12}$) ; 61.3 (CH_2, C_8) ; 56.7 (C_Q, C_1) ; 38.3 ($\text{CH}_2, \text{C}_{10}$) ; 29.9 (CH_2, C_6) ; 23.6 (CH_2, C_5) ; 14.1 (CH_3, C_9)

(R)-ETHYL 1-ALLYL-2-OXOCYCLOHEX-3-ENECARBOXYLATE (R)-242**Procedure :**

To a solution of allylpalladium chloride dimer (3.26 mg, 8.90 μmol , 0.50 % mol) and (*S,S*)-DACH-phenyl Trost ligand (14.8 mg, 21.4 μmol , 1.20 % mol) in toluene (3.70 mL) was added allyl acetate (289 μL , 2.68 mmol, 1.50 equiv.) at -20°C. The initial clear orange solution faded and became cloudy. Degassed 1,1,3,3-tetramethylguanidine (269 μL , 2.14 mmol, 1.10 equiv.) was added at -20°C. The mixture returned to a clear orange solution. Ethyl-2-oxocyclohex-3-ene-1-carboxylate **241** (293 mg, 1.74 mmol, 1.00 equiv.) was added slowly and the reaction was stirred overnight at -20°C under nitrogen atmosphere. The reaction mixture was quenched with saturated aqueous NH_4Cl . The phases were separated. The aqueous phase was extracted with Et_2O . The combined organic extracts were washed with brine and water, dried over MgSO_4 , filtered and concentrated *in vacuo*. The resulting oil was purified by flash chromatography (heptane/ AcOEt 90/10) on silica gel to give the allyl ketone **(R)-242** as a uncoloured oil (317.6 mg, 87 %).

**(R)-242****M.S.** (ESI, m/z)231.1 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ **H.R.M.S.** (ESI, m/z)Calculated for $\text{C}_{12}\text{H}_{16}\text{O}_3\text{Na}^+$: 231.0997 ; Found: 231.0994**IR** $\nu(\text{cm}^{-1})$ 1726 ($\nu_{\text{C=O}}$ ester) ; 1678 ($\nu_{\text{C=O}}$ ketone) ; 1622 ($\nu_{\text{C=C}}$) ; 1190 ($\delta_{\text{C-O}}$) ; 919 (δ_{CH_2} vinylic) ; 670 (δ_{CH_2})**NMR ^1H** (CDCl_3 , 300MHz)

$\delta(\text{ppm})$: 6.91 (dt, 1H, $J=10.1, 4.2\text{Hz}$, H_4) ; 6.05 (dt, 1H, $J=10.0, 2.0\text{Hz}$, H_3) ; 5.85-5.70 (m, 1H, H_{11}) ; 5.13 (m, 1H, H_{12}) ; 5.08 (m, 1H, H_{12}) ; 4.17 (q, 2H, $J=7.2\text{Hz}$, H_8) ; 2.67 (dt, 1H, $J=13.9, 7.3\text{Hz}$, H_{10}) ; 2.54 (dt, 1H, $J=13.9, 7.3\text{Hz}$, H_{10}) ; 2.55-2.22 (m, 3H, H_5, H_6) ; 2.01-1.91 (m, 1H, H_6) ; 1.24 (t, 3H, $J=7.2\text{Hz}$, H_9)

NMR ^{13}C (CDCl_3 , 75MHz)

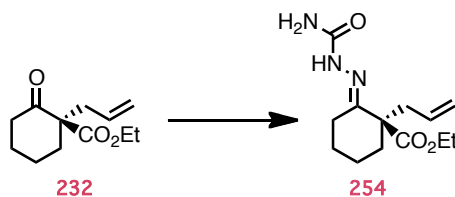
$\delta(\text{ppm})$: 195.7 (C_O , C_2) ; 171.1 (C_O , C_7) ; 149.6 (CH , C_4) ; 133.3 (CH , C_{11}) ; 129.0 (CH , C_3) ; 118.8 (CH_2 , C_{12}) ; 61.3 (CH_2 , C_8) ; 56.6 (C_O , C_1) ; 38.3 (CH_2 , C_{10}) ; 29.9 (CH_2 , C_6) ; 23.6 (CH_2 , C_5) ; 14.1 (CH_3 , C_9)

HPLCEluent: Heptane/*i*PrOH (95/05), column: IC 5 μm (4,6x250mm), injection volume: 10 μL , flow: 0.8 mL/min*(S)* Enantiomere: Retention time : 17.7 min , Area : 9.8 %*(R)* Enantiomere: Retention time : 20.7 min , Area : 90.2 %

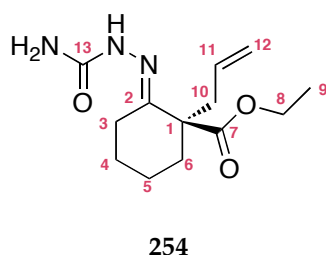
ee = 82%

 $[\alpha]_\text{D}^{25}$ +54.3 ($c = 0.198$, CHCl_3).

**(*R,E*)-ETHYL 1-ALLYL-2-(2CARBAMOYLHYDRAZONO)
CYCLOHEXANECARBOXYLATE **254****

**Procedure :**

To a solution of (*R*)-ethyl 1-allyl-2-oxocyclohexanecarboxylate **232** (825 mg, 3.93 mmol, 1.00 equiv.) of 84% ee in pyridine (1.10 mL), water (2.70 mL) and methanol (7.30 mL) was added semicarbazide hydrochloride (766 mg, 6.80 mmol, 1.75 equiv.). The reaction mixture was heated at 105°C for 15 min, cooled to room temperature, quenched with water (10.0 mL), filtered and dried to give semicarbazone. The crude was suspended in EtOH/water (35/65, v/v, 60.0 mL) and warmed to 90°C. When all the material had dissolved, heating was continued for 8h before the flask was allowed to cool in the heating bath. After one night, crystals were filtered and dried giving the enantioenriched semicarbazone (949 mg, 90 % yield, 94% ee). Recrystallisation of this material in EtOH/water (30/70, v/v, 20 mL) by the same procedure gave semicarbazone **254** (144 mg, 15 % yield, 96 % ee) as a white solid.

**M.S.** (ESI, m/z)268.2 [M+H]⁺290.1 [M+Na]⁺**H.R.M.S.** (ESI, m/z)Calculated for C₁₃H₂₁N₃O₃Na⁺: 290.1481 ; Found: 290.1475**IR** ν(cm⁻¹)3469 (ν_{NH}) ; 2929 (ν_{CHsp3}) ; 1688 (ν_{C=O} ketone) ; 1580 (ν_{C=N}) ; 1465 (ν_{C-N}) ; 1210 (δ_{NH}) ; 763 (δ_{CHsp2})**NMR ¹H** (CDCl₃, 300MHz)

δ(ppm): 8.42 (s, 1H, NH) ; 5.84 (dddd, 1H, J=17.3, 9.5, 7.2, 7.1Hz, H₁₁) ; 5.08 (d, 1H, J=9.4Hz, H₁₂) ; 5.06 (d, 1H, J=17.3Hz, H_{12'}) ; 4.17 (q, 2H, J=7.1Hz, H₈) ; 2.74-2.62 (m, 2H, H₁₀, H₃) ; 2.48 (dd, 1H, J=14.1, 7.3Hz, H_{10'}) ; 2.37 (d, 1H, J=13.0Hz, H₆) ; 1.97 (ddd, 1H, J=14.9, 12.2, 5.0Hz, H_{3'}) ; 1.90-1.77 (m, 1H, H₄) ; 1.76-1.64 (m, 1H, H₅) ; 1.62-1.52 (m, 1H, H_{5'}) ; 1.51-1.33 (m, 2H, H₆, H_{4'}) ; 1.26 (t, 3H, J=7.2Hz, H₉)

NMR ¹³C (CDCl₃, 75MHz)

δ(ppm): 173.4 (C_Q, C₇) ; 158.1 (C_Q, C₁₃) ; 151.6 (C_Q, C₂) ; 134.3 (CH, C₁₁) ; 117.5 (CH₂, C₁₂) ; 61.0 (CH₂, C₈) ; 54.8 (C_Q, C₁) ; 40.5 (CH₂, C₁₀) ; 35.5 (CH₂, C₆) ; 25.5 (CH₂, C₄) ; 25.0 (CH₂, C₃) ; 22.5 (CH₂, C₅) ; 14.3 (CH₃, C₉)

H.P.L.C.

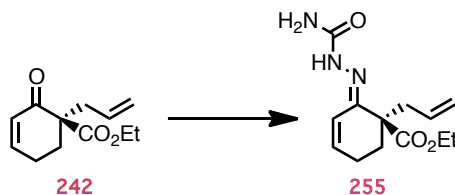
Eluent: Heptane/iPrOH (95/5), column: IA 5 μm (4,6 x 250 mm), injection volume: 10 μL, flow: 1.0 mL/min

(*R*) Enantiomere: Retention time: 19.1 min , Area: 97.7 %(*S*) Enantiomere: Retention time: 21.7 min , Area: 2.3 %

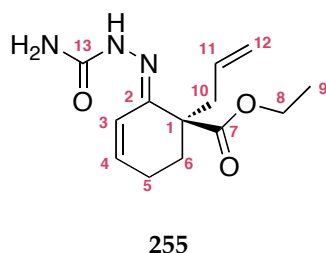
ee = 96 %

[α]_D²⁵ +131.9 (c = 0.492, CHCl₃)**m.p.** 148-149°C (EtOH/H₂O 35/65)

**(*R,E*)-ETHYL 1-ALLYL-2-(2-CARBAMOYLHYDRAZONO)
CYCLOHEX-3-ENECARBOXYLATE **255****

**Procedure :**

To a solution of (*R*)-ethyl 1-allyl-2-oxocyclohex-3-enecarboxylate **242** (931 mg, 4.47 mmol, 1.00 equiv.) of 78% ee in pyridine (1.30 mL), water (3.10 mL) and methanol (8.30 mL) was added semicarbazide hydrochloride (873 mg, 7.82 mmol, 1.75 equiv.). The reaction mixture was heated at 105°C for 15 min, cooled to room temperature, quenched with water (10 mL), filtered and dried to give semicarbazone (500 mg, 42 %). The crude was suspended in EtOH/water (35/65, v/v, 60mL) and warmed to 90°C. When all the material had dissolved, heating was continued for 8h before the flask was allowed to cool in the heating bath. After one night, crystals were filtered and dried giving the enantioenriched semicarbazone (130 mg, 26 % yield, 97% ee). Recrystallisation of this material in EtOH/water (30/70, v/v, 20 mL) by the same procedure gave semicarbazone **255** (51.3 mg, 40 % yield, 99 % ee) as a white solid.

**255****M.S.** (ESI, m/z)266.2 [M+H]⁺288.1 [M+Na]⁺**H.R.M.S.** (ESI, m/z)Calculated for C₁₃H₂₀N₃O₃⁺: 266.1505 ; Found: 266.1490**I.R** ν(cm⁻¹)3447 (ν_{NH}) ; 3138 (ν_{CHsp2}) ; 1722 (ν_{C=O} ester) ; 1692 (ν_{C=O} ketone) ; 1569 (ν_{C=N}) ; 1445 (ν_{C-N}) ; 1234 (δ_{NH}) ; 1191 (δ_{NH}) ; 1086 (δ_{NH}) ; 767 (δ_{CHsp2})**NMR ¹H** (CDCl₃, 300MHz)δ(ppm): 8.93 (s, NH, 1H) ; 6.47 (d, 1H, J=10.0Hz, H₄) ; 6.36 (dd, 1H, J=10.2, 6.9Hz, H₃) ; 5.85 (dddd, 1H, J=16.8, 10.7, 6.7, 6.4Hz, H₁₁) ; 5.16-5.04 (m, 2H, H₁₂) ; 4.16 (q, 2H, J=7.1Hz, H₈) ; 2.73 (dd, 1H, J=14.2, 7.0Hz, H₁₀) ; 2.54 (dd, 1H, J=14.3, 7.5Hz, H_{10'}) ; 2.44-2.18 (m, 2H, H₅) ; 1.88-1.62 (m, 2H, H₆) ; 1.25 (t, 3H, J=7.2Hz, H₉)**NMR ¹³C** (CDCl₃, 75MHz)δ(ppm): 173.2 (C_Q, C₇) ; 157.9 (C_Q, C₁₃) ; 145.0 (C_Q, C₂) ; 139.6 (CH, C₄) ; 134.2 (CH, C₁₁) ; 118.0 (CH, C₃) ; 116.2 (CH₂, C₁₂) ; 60.9 (CH₂, C₈) ; 51.1 (C_Q, C₁) ; 39.4 (CH₂, C₁₀) ; 29.5 (CH₂, C₆) ; 23.5 (CH₂, C₅) ; 14.2 (CH₂, C₉)**H.P.L.C.**

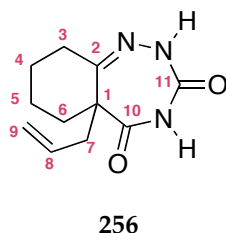
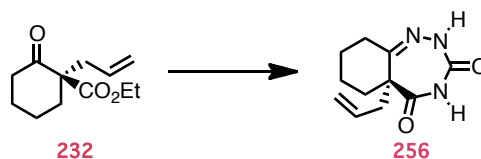
Eluent: Heptane/iPrOH (80/20), column: IC 5 μm (4,6 x 250 mm), injection volume: 10 μL, flow: 1.0 mL/min

(*S*) Enantiomere: Retention time: 22.3 min , Area: 0.7 %(*R*) Enantiomere: Retention time: 29.5 min , Area: 99.3 %

ee = 99 %

[α]_D²⁵ +208.6 (c = 0.260, CHCl₃)**m.p.** 189-192°C (EtOH/H₂O 35/65)

5A-ALLYL-6,7,8,9-TETRAHYDRO-2H-BENZO[F][1,2,4]TRIAZEPINE-3,5(4H,5AH)-DIONE 256

**Procedure :**

Semicarbazide hydrochloride (490 mg, 4.39 mmol, 1.00 equiv.) was pre-treated with an equimolar amount of sodium acetate (360 mg, 4.39 mmol, 1.00 equiv.) in methanol (46.3 mL). The solution was added at room temperature to a magnetically stirred solution of (*R*)-ethyl 1-allyl-2-oxocyclohex-3-enecarboxylate **232** (923 mg, 4.39 mmol, 1.00 equiv.) in methanol (100 mL). The reaction was stirred overnight at 60°C and the reaction solvent was evaporated under reduced pressure. The crude mixture was purified by flash chromatography on silica gel (heptane/ EtOAc 100/0 to 0/100) to afford **256** (667 mg, 69 %) as a white solid.

M.S.(ESI, m/z)

222.1 [M+H]⁺
244.1 [M+Na]⁺

H.R.M.S. (ESI, m/z)

Calculated for C₁₁H₁₅N₃O₂Na⁺: 244.1062 ; Found: 244.1060

I.R ν(cm⁻¹)

2942 (ν_{CHsp3}) ; 1710 (ν_{C=O} ketone) ; 1437 (δ_{CHsp3}) ; 1198 (δ_{NH}) ; 916(δ_{CHsp2})

NMR ¹H(CDCl₃, 300MHz)

δ(ppm): 7.61 (s, 1H, C₁₀NHC₁₁) ; 6.57 (s, 1H, NNHC₁₁) ; 5.48 (ddt, 1H, J=17.0, 10.0, 7.3Hz, H₈) ; 5.14 (dd, 1H, J=17.0, 1.5Hz, H₉) ; 5.08 (dd, 1H, J=10.0, 1.5Hz, H₉) ; 2.77 (dd, 1H, J=13.9, 3.9Hz, H₃) ; 2.70 (dd, 1H, J=13.9, 7.1Hz, H₇) ; 2.52 (dd, 1H, J=13.9, 7.4Hz, H₇) ; 2.33 (td, 1H, J=13.3, 5.5Hz, H₃) ; 2.21-2.07 (m, 2H, H₆, H₅) ; 1.84-1.61 (m, 2H, H₄) ; 1.60-1.37 (m, 2H, H₆, H₅)

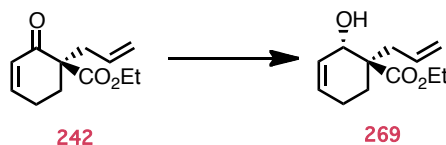
NMR ¹³C(CDCl₃, 75MHz)

δ(ppm): 178.5 (C_Q, C₁₀) ; 166.8 (C_Q, C₁₁) ; 150.8 (C_Q, C₂) ; 130.0 (CH, C₈) ; 120.1 (CH₂, C₉) ; 55.2 (C_Q, C₁) ; 36.5 (CH₂, C₇) ; 34.0 (CH₂, C₆) ; 28.1 (CH₂, C₅) ; 27.0 (CH₂, C₃) ; 20.5 (CH₂, C₄)

m.p.

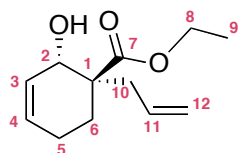
110-114°C

ETHYL 1-ALLYL-2-HYDROXYCYCLOHEX-3-ENECARBOXYLATE **269**



Procedure :

To a solution of ethyl 1-allyl-2-oxocyclohex-3-enecarboxylate **242** (50.0 mg, 0.240 mmol, 1.00 equiv.) in methanol (3.5 mL) was added cerium chloride heptahydrate (206 mg, 0.550 mmol, 2.30 equiv.). After being stirred at room temperature for 30 min, the reaction mixture was cooled to -30°C and sodium borohydride (18.2 mg, 0.480 mmol, 2.00 equiv.) was added carefully. After 2h at this temperature, the mixture was quenched with water and extracted with ethyl acetate. The combined organic extracts were washed with brine and water, dried over MgSO₄, filtered and concentrated *in vacuo*. The resulting oil was purified by flash chromatography (heptane/AcOEt 100/0 to 60/40) on silica gel to give the alcohol **269** as a colorless oil (43.6 mg, 88 %, dr >95:<5).



269

M.S. (ESI, m/z)

233.1 [M+Na]⁺

H.R.M.S. (ESI, m/z)

Calculated for C₁₂H₁₈O₃Na⁺: 235.1154 ; Found: 235.1147

IR ν(cm⁻¹)

3446 (ν_{OH} alcohol); 3075 (ν_{CHsp2}); 3028 (ν_{CHsp2}); 1719 (ν_{C=O} ester); 1713 (ν_{C=O} ester); 1639 (ν_{C=C}); 1216 (ν_{C-O} ester); 1186 (ν_{CO} alcohol); 914 (δ_{CHsp2}); 685 (δ_{CHsp2})

NMR ¹H (CDCl₃, 300MHz)

δ(ppm): 5.83-5.60 (m, 3H, H₁₁, H₃, H₄); 5.07-4.96 (m, 2H, H₁₂); 4.41-4.36 (m, 1H, H₂); 4.10 (q, 2H, J=7.1Hz, H₈); 2.52 (dd, 1H, J=14.2, 7.1Hz, H₁₀); 2.28 (brs, 1H, OH); 2.22 (dd, 1H, J=14.2, 7.9Hz, H₁₀); 2.04-1.95 (m, 2H, H₆); 1.84-1.66 (m, 2H, H₅); 1.19 (t, 3H, J=7.1Hz, H₉)

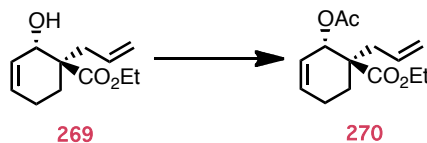
NMR ¹³C (CDCl₃, 75MHz)

δ(ppm): 175.8 (C_Q, C₇); 134.1 (CH, C₁₁); 129.2 (CH, C₄); 128.1 (CH, C₃); 117.9 (CH₂, C₁₂); 68.4 (CH, C₂); 60.7 (CH₂, C₈); 49.2 (C_Q, C₁); 35.9 (CH₂, C₁₀); 25.3 (CH₂, C₆); 22.4 (CH₂, C₅); 14.3 (CH₃, C₉)

[α]_D²⁵

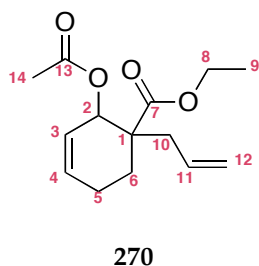
+51.0 (c = 0.204, CHCl₃)

ETHYL 2-ACETOXY-1-ALLYLCYCLOHEX-3-ENECARBOXYLATE **270**



Procedure :

Ac₂O (570 μ L, 1.14 mmol, 4.00 equiv.), dry pyridine (285 μ L, 0.285 mmol, 1.00 equiv.), and DMAP (3.50 mg, 0.0285 mmol, 0.10 equiv.) were added to a solution of ethyl 1-allyl-2-hydroxycyclohex-3-enecarboxylate **269** (60.0 mg, 0.285 mmol, 1.00 equiv.) in dry dichloromethane (3.00 mL) under nitrogen and the resulting solution was stirred for 30 min at 0°C. The solution was washed with 10% CuSO₄ solution. The organic layer was collected and washed with saturated sodium bicarbonate solution and brine. The organic layer was dried over MgSO₄ and concentrated under reduced pressure. Flash chromatography on silica gel (Heptane/EtOAc, 100/0 to 60/40) yielded 31.8 mg (44%) of **270** as a colorless oil.



M.S.(ESI, m/z)

275.1 [M+Na]⁺
307.2 [M+Na+MeOH]⁺

H.R.M.S. (ESI, m/z)

Calculated for C₁₄H₂₀O₄Na⁺ : 275.1259 ; Measured : 275.1269

IR ν (cm⁻¹)

3149 ($\nu_{\text{CHsp}2}$) ; 3118 ($\nu_{\text{CHsp}2}$) ; 2979 ($\nu_{\text{CHsp}3}$) ; 2932 ($\nu_{\text{CHsp}3}$) ; 1729 ($\nu_{\text{C=O ester}}$) ; 1641 ($\nu_{\text{C=C}}$) ; 1446 ($\delta_{\text{CHsp}3}$) ; 1368 ($\delta_{\text{CHsp}3}$) ; 1231 ($\nu_{\text{C-O ester}}$) ; 1205 ($\nu_{\text{C-O ester}}$) ; 1017 ($\delta_{\text{CHsp}2}$) ; 735 ($\delta_{\text{CHsp}2}$)

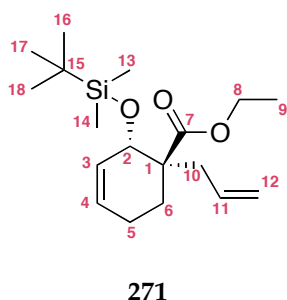
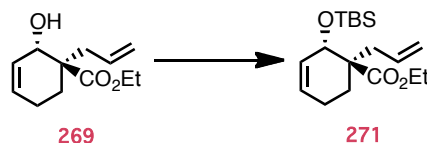
NMR ¹H (CDCl₃, 500MHz)

δ (ppm) : 5.92 (d, 1H, J=10.0Hz, H₄) ; 5.83 (d, 1H, J=10.0Hz, H₃) ; 5.72 (dddd, 1H, J=16.9, 10.2, 7.9, 7.2Hz, H₁₁) ; 5.58 (s, 1H, H₂) ; 5.09-5.02 (m, 2H, H₁₂) ; 4.15 (q, 2H, J=7.3Hz, H₈) ; 2.50 (dd, 1H, J=13.8, 7.1Hz, H₁₀) ; 2.30 (dd, 1H, J=13.9, 7.8Hz, H_{10'}) ; 2.18-2.01 (m, 3H, H₅, H₆) ; 2.08 (s, 3H, H₁₄) ; 1.79 (t, 1H, J=14.0Hz, H₅) ; 1.25 (t, 3H, H₉)

NMR ¹³C (CDCl₃, 75MHz)

δ (ppm) : 173.5 (C_Q, C₇) ; 170.2 (C_Q, C₁₃) ; 133.1 (CH, C₁₁) ; 132.1 (CH, C₄) ; 124.7 (CH, C₃) ; 118.1 (CH₂, C₁₂) ; 68.6 (CH, C₂) ; 60.7 (CH₂, C₈) ; 48.7 (C_Q, C₁) ; 39.0 (CH₂, C₁₀) ; 26.0 (CH₂, C₆) ; 22.9 (CH₂, C₅) ; 21.1 (CH₃, C₁₄) ; 14.2 (CH₃, C₉)

**ETHYL 1-ALLYL-2-(*TERT*-BUTYLDIMETHYLSILOXY)
CYCLOHEX-3-ENECARBOXYLATE **271****

**Procedure :**

To a solution of ethyl 1-allyl-2-hydroxycyclohex-3-enecarboxylate **269** (50 mg, 0.236 mmol, 1.00 equiv.) in dichloromethane (1.00 mL) were added 2,6-lutidine (110 μ L, 0.944 mmol, 4.00 equiv.) and TBSOTf (136 μ L, 0.590 mmol, 2.50 equiv.) at 0°C. After 3h at 0°C, the mixture was quenched with a saturated solution of NH₄Cl and the organic layer was collected. The aqueous phase was extracted with CH₂Cl₂. The combined organic extracts were washed with brine and water, dried over MgSO₄, filtered and concentrated *in vacuo*. The resulting oil was purified by flash chromatography (heptane/AcOEt 80/20) on silica gel to give the protected alcohol **271** as a colorless oil (63.8 mg, 83 %).

M.S. (ESI, m/z)347.2 [M+Na]⁺**H.R.M.S.** (ESI, m/z)Calculated for C₁₈H₃₂O₃NaSi⁺: 347.2018 ; Found: 347.2034**IR** ν (cm⁻¹)3031 (ν_{CHsp^2}) ; 1727 ($\nu_{\text{C=O}}$ ester) ; 1640 ($\nu_{\text{C=C}}$) ; 1252 ($\nu_{\text{C-O}}$ ester) ; 1084 (ν_{SiO}) ; 1050 (ν_{SiO}) ; 1005 (δ_{CHsp^2}) ; 911 (δ_{CHsp^2}) 835 (ν_{SiC}) ; 773 (ν_{SiC})**NMR** ¹H (CDCl₃, 300MHz)

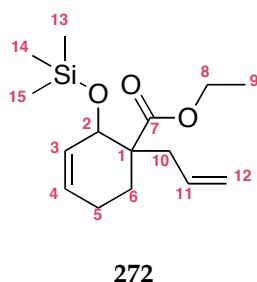
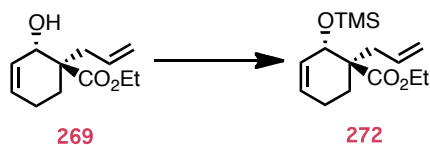
δ (ppm): 5.85-5.55 (m, 3H, H₁₁, H₃, H₄) ; 5.03-4.93 (m, 2H, H₁₂) ; 4.39 (d, J=3.6Hz, H₂) ; 4.05 (qd, 2H, J=7.1, 3.0Hz, H₈) ; 2.55 (dd, 1H, J=14.1, 6.0Hz, H₁₀) ; 2.13 (dd, 1H, J=14.1, 8.7Hz, H_{10'}) ; 2.02-1.93 (m, 2H, H₅) ; 1.83 (ddd, 1H, J=13.3, 6.3, 5.1Hz, H₆) ; 1.69 (ddd, 1H, J=13.3, 7.7, 6.2Hz, H_{6'}) ; 1.18 (t, 3H, J=7.2Hz, H₉) ; 0.83 (s, 9H, H₁₆, H₁₇, H₁₈) ; 0.01 (s, 3H, H₁₄) ; 0.00 (s, 3H, H₁₃)

NMR ¹³C (CDCl₃, 75MHz)

δ (ppm): 175.1 (C_Q, C₇) ; 134.8 (CH, C₁₁) ; 129.3 (CH, C₃) ; 129.1 (CH, C₄) ; 117.3 (CH₂, C₁₂) ; 68.3 (CH, C₂) ; 60.2 (CH₂, C₈) ; 50.4 (C_Q, C₁) ; 37.4 (CH₂, C₁₀) ; 25.8 (3CH₃, C₁₆, C₁₇, C₁₈) ; 25.5 (CH₂, C₆) ; 22.8 (CH₂, C₅) ; 18.1 (C_Q, C₁₅) ; 14.2 (CH₃, C₉) ; -3.7 et -4.9 (2CH₃, C₁₃, C₁₄)

[α]_D²⁵+101.1 (c = 0.358, CHCl₃)

ETHYL 1-ALLYL-2-(TRIMETHYLSILOXY)CYCLOHEX-3-ENECARBOXYLATE **272**



Procedure :

To a solution of ethyl 1-allyl-2-hydroxycyclohex-3-enecarboxylate **269** (100 mg, 0.476 mmol, 1.00 equiv.) in dichloromethane (2.00 mL) were added 2,6-lutidine (222 μ L, 1.90 mmol, 4.00 equiv.) and TMSOTf (215 μ L, 1.19 mmol, 2.50 equiv.) at 0°C. After 2h30, the mixture was quenched with a saturated solution of NH_4Cl and the organic layer was collected. The aqueous phase was extracted with CH_2Cl_2 . The combined organic extracts were washed with brine and water, dried over MgSO_4 , filtered and concentrated *in vacuo*. The resulting oil was purified by flash chromatography (heptane/AcOEt 80/20) to give the protected alcohol **272** as a colorless oil (147 mg, 99 %).

M.S. (ESI, m/z)

305.2 $[\text{M}+\text{Na}]^+$

H.R.M.S. (ESI, m/z)

Calculated for $\text{C}_{15}\text{H}_{26}\text{O}_3\text{NaSi}^+$: 305.1549 ; Found: 305.1536

I.R $\nu(\text{cm}^{-1})$

3198 ($\nu_{\text{CHsp}2}$) ; 2956 ($\nu_{\text{CHsp}3}$) ; 1728 ($\nu_{\text{C=O}}$ ester) ; 1640 ($\nu_{\text{C=C}}$) ; 1446 ($\delta_{\text{CHsp}3}$) ; 1367 ($\delta_{\text{CHsp}3}$) ; 1250 ($\nu_{\text{C-O}}$ ester) ; 1051 (ν_{SiO}) ; 914 ($\delta_{\text{CHsp}2}$) ; 889 ($\delta_{\text{CHsp}2}$) ; 840 (ν_{SiC})

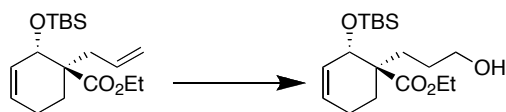
NMR ^1H (CDCl_3 , 300MHz)

$\delta(\text{ppm})$: 5.86-5.74 (m, 2H, H_4 , H_{11}) ; 5.72-5.66 (m, 1H, H_3) ; 5.11-5.02 (m, 2H, H_{12}) ; 4.46 (d, 1H, $J=3.9\text{Hz}$, H_2) ; 4.14 (qd, 2H, $J=7.1$, 1.7Hz , H_8) ; 2.59 (dd, 1H, $J=14.2$, 6.5Hz , H_{10}) ; 2.21 (dd, 1H, $J=14.1$, 8.4Hz , $\text{H}_{10'}$) ; 2.09-2.03 (m, 2H, H_5) ; 1.91 (ddd, 1H, $J=13.1$, 6.0 , 5.3Hz , H_6) ; 1.77 (ddd, 1H, $J=13.6$, 7.7 , 5.7Hz , H_6) ; 1.26 (t, 3H, $J=7.0\text{Hz}$, H_9) ; 0.14 (s, 9H, H_{15} , H_{14} , H_{13})

NMR ^{13}C (CDCl_3 , 75MHz)

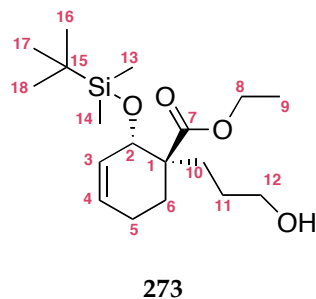
$\delta(\text{ppm})$: 174.6 (C_Q , C_7) ; 134.2 (CH , C_{11}) ; 128.8 (CH , C_3) ; 128.7 (CH , C_4) ; 116.9 (CH_2 , C_{12}) ; 67.6 (CH , C_2) ; 59.8 (CH_2 , C_8) ; 49.7 (C_Q , C_1) ; 37.2 (CH_2 , C_{10}) ; 24.9 (CH_2 , C_6) ; 22.4 (CH_2 , C_5) ; 13.8 (CH_3 , C_9) ; 0.01 (3CH_3 , C_{13} , C_{14} , C_{15})

ETHYL 2-(*tert*-BUTYLDIMETHYLSILYLOXY)-1-(3-HYDROXYPROPYL)CYCLOHEX-3-ENECARBOXYLATE **273**



Procedure :

To a solution of ethyl 1-allyl-2-(*tert*-butyldimethylsilyloxy)cyclohex-3-enecarboxylate **271** (30.0 mg, 920 μ mol, 1.00 equiv.) in THF (1.80 mL) was added dropwise borane-dimethyl sulfide complex (2M in THF) (46.0 μ L, 920 μ mol, 1.00 equiv.). Stirring was continued overnight at room temperature. The reaction was quenched by addition of sodium perborate (42.5 mg, 0.276 mmol, 3.00 equiv.) and water (2.00 mL). The mixture was maintained at room temperature and stirred vigorously for 24h. The reaction mixture was quenched with water and the phases were separated. The aqueous phase was extracted with EtOAc. The combined organic extracts were washed with brine and water, dried over MgSO_4 , filtered and concentrated *in vacuo*. The resulting oil was purified by flash chromatography (heptane/AcOEt 80/20 to 50/50) on silica gel to afford the alcohol **273** as colorless oil (8.20 mg, 26 %).



M.S. (ESI, m/z)

365.2 $[\text{M}+\text{Na}]^+$

H.R.M.S. (ESI, m/z)

Calculated for $\text{C}_{18}\text{H}_{34}\text{O}_4\text{NaSi}^+$: 365.2124; Found: 365.2137

IR $\nu(\text{cm}^{-1})$

3428 (ν_{OH} alcohol); 3118 ($\nu_{\text{CHsp}2}$); 2929 ($\nu_{\text{CHsp}3}$); 2856 ($\nu_{\text{CHsp}3}$); 1726 ($\nu_{\text{C=O}}$ ester); 1462 ($\delta_{\text{CHsp}3}$); 1361 ($\delta_{\text{CHsp}3}$); 1254 ($\nu_{\text{C-O}}$ ester); 1092 (ν_{SiO}); 1066 (ν_{SiO}); 1060 (ν_{CO} alcohol); 835 (ν_{SiC}); 773 (ν_{SiC}); 668 ($\delta_{\text{CHsp}2}$)

NMR ^1H (CDCl_3 , 300MHz)

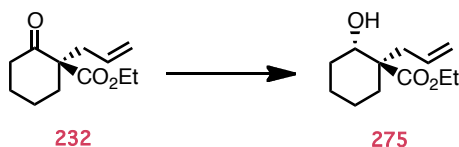
$\delta(\text{ppm})$: 5.71-5.59 (m, 2H, H_3 , H_4); 4.39 (d, 1H, $J=3.0\text{Hz}$, H_2); 4.06 (qd, 2H, $J=7.1$, 1.1Hz, H_8); 3.55 (dd, 2H, $J=11.4$, 5.5Hz, H_{12}); 2.03-1.93 (m, 1H, H_5); 1.88-1.65 (m, 3H, H_5 , H_6); 1.63-1.28 (m, 4H, H_{10} , H_{11}); 1.18 (t, 3H, $J=7.2\text{Hz}$, H_9); 0.82 (s, 9H, H_{16} , H_{17} , H_{18}); 0.01 (s, 3H, H_{14}); 0.00 (s, 3H, H_{13})

NMR ^{13}C (CDCl_3 , 75MHz)

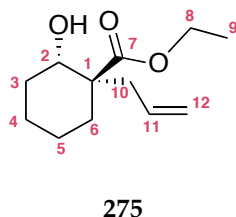
$\delta(\text{ppm})$: 175.5 (C_Q , C_7); 129.3 (CH, C_4); 129.1 (CH, C_3); 67.8 (CH, C_2); 63.4 (CH_2 , C_{12}); 60.3 (CH_2 , C_8); 50.0 (C_Q , C_1); 29.3 (CH_2 , C_{10}); 27.7 (CH_2 , C_{11}); 26.0 (CH_2 , C_6); 25.8 (3CH_3 , C_{16} , C_{17} , C_{18}); 23.2 (CH_2 , C_5); 18.1 (C_Q , C_{15}); 14.2 (CH_3 , C_9), -3.7 and -4.8 (2 CH_3 , C_{13} , C_{14})

$[\alpha]_D^{25}$

+35.6 ($c = 0.200$, CHCl_3)

ETHYL 1-ALLYL-2-HYDROXYCYCLOHEXANECARBOXYLATE **275****Procedure :**

To a solution of ethyl 1-allyl-2-oxocyclohexanecarboxylate **232** (2.00 g, 9.51 mmol, 1.00 equiv.) in ethanol (136 mL) was added calcium chloride (243 mg, 21.9 mmol, 2.30 equiv.) at room temperature. After being stirred at the same temperature for 30 min, the reaction mixture was cooled to 0°C and sodium borohydride (720 mg, 19.0 mmol, 2.00 equiv.) was added carefully. After 2h at this temperature, the mixture was quenched with water and extracted with dichloromethane. The combined organic extracts were washed with brine and water, dried over MgSO₄, filtered and concentrated *in vacuo*. The resulting oil was purified by flash chromatography (heptane/AcOEt 80/20) on silica gel to give the alcohol **275** (1.57 g, 86 %) as an inseparable mixture of diastereoisomers (70/30 ratio) as a colorless oil.

**M.S.** (ESI, m/z)

235.2 [M+Na]⁺
267.3 [M+Na+MeOH]⁺

H.R.M.S. (ESI, m/z)

Calculated for C₁₂H₂₀O₃Na⁺: 235.1310 ; Found: 235.1300

I.R. ν(cm⁻¹)

3498 (ν_{OH} alcohol) ; 3075 (ν_{CHsp2}) ; 1714 (ν_{C=O} ester) ; 1639 (ν_{C=C}) ; 1213 (ν_{C-O} ester) ; 1140 (ν_{CO} alcohol) ; 922 (δ_{CHsp2}) ; 913 (δ_{CHsp2})

NMR ¹H (CDCl₃, 300MHz)

Major diastereomer: δ(ppm): 5.80-5.58 (m, 1H, H₁₁) ; 5.04-4.90 (m, 2H, H₁₂) ; 4.07 (q, 2H, J=7.1Hz, H₈) ; 4.02-3.94 (m, 1H, H₂) ; 2.84 (s, 1H, OH) ; 2.50 (dd, 1H, J=13.5, 7.5Hz, H₁₀) ; 2.25 (dd, 1H, J=13.5, 7.5Hz, H_{10'}) ; 1.83-1.21 (m, 8H, H₃, H₄, H₅, H₆) ; 1.18 (t, 3H, J=7.1Hz, H₉)

NMR ¹³C (CDCl₃, 75MHz)

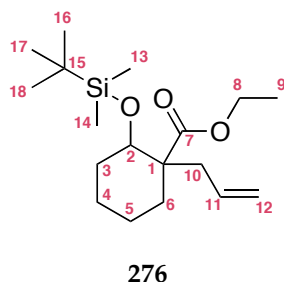
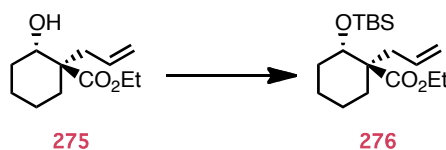
Major diastereomer: δ(ppm): 176.7 (C_Q, C₇) ; 134.1 (CH, C₁₁ trans) ; 117.5 (CH₂, C₁₂ trans) ; 71.2 (CH, C₂ trans) ; 60.5 (CH₂, C₈) ; 50.8 (C_Q, C₁ trans) ; 35.7 (CH₂, C₁₀ trans) ; 29.6 (CH₂, C₆ trans) ; 29.4 (CH₂, C₃ trans) ; 22.3 (CH₂, C₅ trans) ; 21.4 (CH₂, C₄ trans) ; 14.2 (CH₃, C₉)

Minor diastereomer: δ(ppm): 176.7 (C_Q, C₇) ; 133.2 (CH, C₁₁ cis) ; 118.2 (CH₂, C₁₂ cis) ; 74.3 (CH, C₂ cis) ; 60.5 (CH₂, C₈) ; 51.7 (C_Q, C₁ cis) ; 41.2 (CH₂, C₁₀ cis) ; 32.2 (CH₂, C₆ cis) ; 31.5 (CH₂, C₃ cis) ; 23.9 (CH₂, C₅ cis) ; 22.5 (CH₂, C₄ cis) ; 14.2 (CH₃, C₉)

Reference

Fraga, C. A. M.; Teixeira, L. H. P.; Menezes, C. M. d. S.; Sant'Anna, C. M. R.; Ramos, M. d. C. o. K. V.; Neto, F. R. d. A.; Barreiro, E. J. *Tetrahedron* **2004**, *60*, 2745-2755.

**ETHYL 1-ALLYL-2-(*TERT*BUTYLDIMETHYLSILYLOXY)
CYCLOHEXANECARBOXYLATE **276****

**Procedure :**

To a solution of ethyl 1-allyl-2-hydroxycyclohex-3-enecarboxylate **275** (500 mg, 2.36 mmol, 1.00 equiv.) in dichloromethane (5.00 mL) were added 2,6-lutidine (1.10 mL, 9.42 mmol, 4.00 equiv.) and TBSOTf (515 μ L, 2.24 mmol, 0.95 equiv.) at 0°C. After 3h at 0°C, the mixture was quenched with a saturated solution of NH₄Cl and the organic layer was collected. The aqueous phase was extracted with CH₂Cl₂. The combined organic extracts were washed with brine and water, dried over MgSO₄, filtered and concentrated *in vacuo*. The resulting oil was purified by flash chromatography (heptane/AcOEt 80/20) on silica gel to give the protected alcohol **276** as a colorless oil (503 mg, 65 %). The product was obtained as a mixture of two diastereoisomers in a 70/30 ratio.

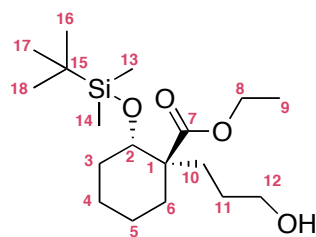
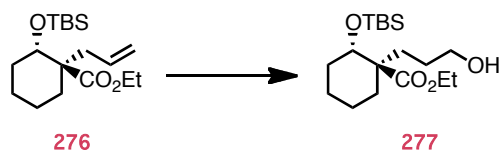
M.S.(ESI, m/z)349.2 [M+Na]⁺**H.R.M.S.**(ESI, m/z)Calculated for C₁₈H₃₄O₃NaSi⁺: 349.2175 ; Found: 349.2177**I.R.** ν (cm⁻¹)3076 ($\nu_{\text{CHsp}2}$) ; 1724 ($\nu_{\text{C=O}}$ ester) ; 1640 ($\nu_{\text{C=C}}$) ; 1212 ($\nu_{\text{C-O}}$ ester) ; 1052 (ν_{SiO}) ; 1022 (ν_{SiO}) ; 913 ($\delta_{\text{CHsp}2}$) ; 834 (ν_{SiC}) ; 773 (ν_{SiC})**NMR** ¹H(CDCl₃, 300MHz)

Major diastereoisomer: δ (ppm): 5.77-5.61 (m, 1H, H₁₁) ; 4.99-4.90 (m, 2H, H₁₂) ; 4.07 (qd, 2H, J=7.1, 1.1Hz, H₈) ; 2.38 (dd, 1H, J=13.9, 6.4Hz, H₁₀) ; 2.15 (dd, 1H, J=13.8, 8.4Hz, H_{10'}) ; 1.77 (dt, 1H, J=12.9, 4.6Hz, H₂) ; 1.64-1.38 (m, 6H, H₃, H₄, H₆) ; 1.36-1.23 (m, 2H, H₅) ; 1.20 (t, 3H, J=7.1Hz, H₉) ; 0.85 (s, 9H, H₁₆, H₁₇, H₁₈) ; 0.01 (s, 3H, H₁₄) ; 0.00 (s, 3H, H₁₃)

NMR ¹³C(CDCl₃, 75MHz)

Major diastereoisomer: δ (ppm): 175.2 (C_Q, C₇) ; 134.3 (CH, C₁₁) ; 117.1 (CH₂, C₁₂) ; 70.9 (CH, C₂) ; 60.1 (CH₂, C₈) ; 52.3 (C_Q, C₁) ; 39.8 (CH₂, C₁₀) ; 31.0 (CH₂, C₃) ; 28.7 (CH₂, C₆) ; 25.9 et 25.7 (3CH₃, C₁₆, C₁₇, C₁₈) ; 22.3 (CH₂, C₄) ; 20.2 (CH₂, C₅) ; 18.1 (C_Q, C₁₅) ; 14.3 (CH₃, C₉) ; -4.0 and -5.0 (2CH₃, C₁₃, C₁₄)

**ETHYL 2-(*tert*-BUTYLDIMETHYLSILOXY)-1-(3HYDROXYPROPYL)
CYCLOHEXANECARBOXYLATE **277****

**277****Procedure :**

To a solution of ethyl 1-allyl-2-(*tert*-butyldimethylsilyloxy)cyclohexane carboxylate **276** (50.0 mg, 153 μmol , 1.00 equiv.) in THF (3.00 mL) was added dropwise borane-tetrahydrofuran complex (2M in THF) (91.8 μL , 0.184 mmol, 1.00 equiv.) at 0°C. Stirring was continued 24h at room temperature. Then sodium perborate (70.6 mg, 0.459 mmol, 3.00 equiv.) and water (3.5 mL). The mixture was maintained at room temperature and stirred vigorously for 3 days at room temperature. The reaction mixture was quenched with water and the phases were separated. The aqueous phase was extracted with EtOAc. The combined organic extracts were washed with brine and water, dried over MgSO_4 , filtered and concentrated *in vacuo*. The resulting oil was purified by flash chromatography (heptane/AcOEt 100/0 to 0/100) on silica gel to afford the alcohol **277** as a colorless oil (23.3 mg, 44 %, dr : 70/30).

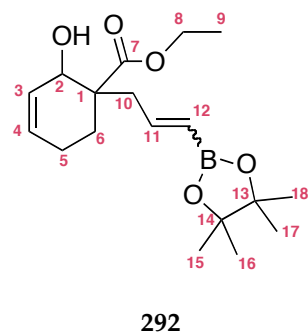
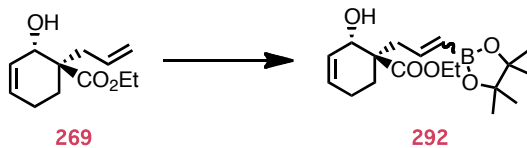
M.S. (ESI, m/z)367.2 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ **H.R.M.S.** (ESI, m/z)Calculated for $\text{C}_{18}\text{H}_{36}\text{O}_4\text{NaSi}^+$: 367.2281 ; Found: 367.2296**IR** $\nu(\text{cm}^{-1})$ 3380 (ν_{OH} alcohol) ; 2930 (ν_{CHsp^3}) ; 2856 (ν_{CHsp^3}) ; 1721 ($\nu_{\text{C=O}}$ ester) ; 1462 (δ_{CHsp^3}) ; 1361 (δ_{CHsp^3}) ; 1255 ($\nu_{\text{C-O}}$ ester) ; 1084 (ν_{SiO}) ; 1053 (ν_{CO} alcohol) ; 1050 (ν_{SiO}) ; 835 (ν_{SiC}) ; 773 (ν_{SiC})**NMR ^1H** (CDCl_3 , 300MHz)

Major diastereoisomer: $\delta(\text{ppm})$: 4.12-4.03 (m, 3H, $J=7.1\text{Hz}$, H_2 , H_8) ; 3.58-3.45 (m, 2H, H_{12}) ; 1.76 (td, 1H, $J=13.5$, 4.3Hz, H_3) ; 1.65-1.30 (m, 9H, H_3' , H_4 , H_{10} , H_{11} , H_6) ; 1.30-1.15 (m, 2H, H_5) ; 1.2 (t, 3H, $J=7.1\text{Hz}$, H_9) ; 0.83 (s, 9H, H_{16} , H_{17} , H_{18}) ; 0.01 (s, 3H, H_{14}) ; 0.00 (s, 3H, H_{13})

NMR ^{13}C (CDCl_3 , 75MHz)

Major diastereoisomer: $\delta(\text{ppm})$: 175.8 (C_Q , C_7) ; 70.7 (CH , C_2) ; 63.4 (CH_2 , C_{12}) ; 60.1 (CH_2 , C_8) ; 51.6 (C_Q , C_1) ; 31.0 (2CH_2 , C_6 , C_{10}) ; 29.3 (CH_2 , C_3) ; 27.3 (CH_2 , C_{11}) ; 25.9 (3CH_3 , C_{16} , C_{17} , C_{18}) ; 22.6 (CH_2 , C_4) ; 20.3 (CH_2 , C_5) ; 18.1 (C_Q , C_{15}) ; 14.3 (CH_3 , C_9) ; -4.1 (CH_3 , C_{13}) ; -5.0 (CH_3 , C_{14})

**ETHYL 2-HYDROXY-1-(3-(4,4,5,5-TETRAMETHYL-1,3,2-DIOXABOROLAN-2-
YL)ALLYL)CYCLOHEX-3-ENECARBOXYLATE **292****

**Procedure :**

To a stirred and degazed solution of allyl alcohol **269** (20.0 mg, 950 μmol , 1.00 equiv.) and vinyl boronic acid pinacol ester (80.7 μL , 476 μmol , 5.00 equiv.) in anhydrous toluene (1.50 mL) was added Hoveyda-Grubbs' catalyst II (8.10 mg, 9.50 μmol , 10.0 % mol). The mixture was heated at 80°C for 3h then cooled to ambient temperature. After filtration under celite® (EtOAc eluent) and solvent evaporation, the residue obtained was purified by flash column chromatography (heptane/EtOAc 90/10) on silica gel. The product **292** was obtained as a slightly pink oil (31.3 mg, 98 %).

M.S. (ESI, m/z)

359.2 [M+Na]⁺

H.R.M.S. (ESI, m/z)

Calculated for C₁₈H₂₉O₅Na¹¹B⁺: 359.2006 ; Found: 359.2002

I.R $\nu(\text{cm}^{-1})$

3466 ($\nu_{\text{C=O}}$ alcohol) ; 3077 ($\nu_{\text{CHsp}2}$) ; 2978 ($\nu_{\text{CHsp}3}$) ; 2954 ($\nu_{\text{CHsp}3}$) ; 1725 ($\nu_{\text{C=O}}$ ester) ; 1637 ($\nu_{\text{C=C}}$) ; 1446 ($\delta_{\text{CHsp}3}$) ; 1362 (ν_{BO}) ; 1322 (ν_{BO}) ; 1144 ($\nu_{\text{C-O}}$ alcohol) ; 970 ($\delta_{\text{CHsp}2}$) ; 849 ($\delta_{\text{CHsp}2}$) ; 750 ($\delta_{\text{CHsp}2}$)

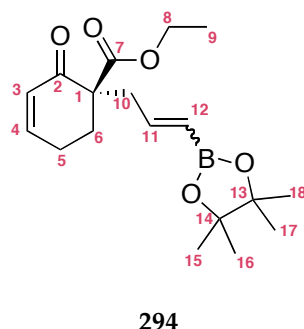
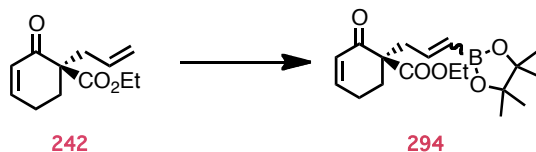
NMR ¹H (CDCl₃, 300MHz)

$\delta(\text{ppm})$: 6.58-6.42 (m, 1H, H₁₁) ; 5.75-5.67 (m, 1H, H₄) ; 5.62 (dq, 1H, J=10.0, 2.5Hz, H₃) ; 5.43 (dd, 1H, J=17.7, 2.3Hz, H₁₂) ; 4.39 (m, 1H, H₂) ; 4.16-4.00 (m, 2H, H₈) ; 2.61 (ddd, 1H, J=14.3, 7.0, 1.3Hz, H₁₀) ; 2.32 (ddd, 1H, J=14.3, 7.6, 1.2Hz, H_{10'}) ; 2.04-1.95 (m, 2H, H₅) ; 1.88-1.64 (m, 2H, H₆) ; 1.21-1.15 (m, 15H, H₉, H₁₅, H₁₆, H₁₇, H₁₈)

NMR ¹³C (CDCl₃, 75MHz)

$\delta(\text{ppm})$: 175.7 (C_Q, C₇) ; 149.2 (CH, C₁₁) ; 129.1 (CH, C₄) ; 128.0 (CH, C₃) ; 83.1 (2C_Q, C₁₃, C₁₄) ; 68.6 (CH, C₂) ; 60.7 (CH₂, C₈) ; 49.1 (C_Q, C₁) ; 37.6 (CH₂, C₁₀) ; 25.3 (CH₂, C₆) ; 24.8 (2CH₃, C₁₅, C₁₇) ; 24.7 (2CH₃, C₁₆, C₁₈) ; 22.4 (CH₂, C₅) ; 14.2 (CH₃, C₉)

ETHYL 2-OXO-1-(3-(4,4,5,5-TETRAMETHYL-1,3,2-DIOXABOROLAN-2-YL)ALLYL)CYCLOHEX-3-ENECARBOXYLATE **294**

**Procedure :**

To a stirred and degazed solution of allyl ketone **242** (300 mg, 1.44 mmol, 1.00 equiv.) and vinyl boronic acid pinacol ester (1.20 mL, 7.20 mmol, 5.00 equiv.) in toluene (14.5 mL) was added Hoveyda-Grubbs' catalyst II (90.2 mg, 0.140 mmol, 10.0 % mol). The mixture was heated at 90°C for 20h then cooled to ambient temperature. Solvent was removed *in vacuo* and the resulting residue was purified by flash column chromatography (heptane/AcOEt 90/10) on silica gel. The product **294** was obtained as a slightly pink oil (418 mg, 90 %) and contained a mixture of (*E*) and (*Z*)-boronate (80/20).

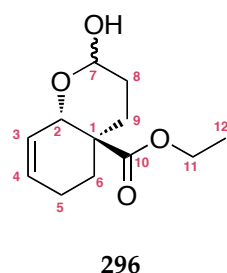
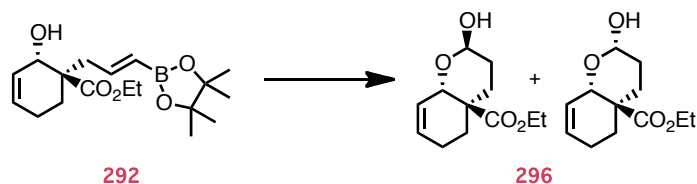
M.S.(ESI, m/z)357.2 [M+Na]⁺**H.R.M.S.** (ESI, m/z)Calculated for C₁₈H₂₇O₅NaB⁺: 357.1849 ; Found: 357.1852**I.R** ν(cm⁻¹)2978 (ν_{CHsp3}) ; 1729 (ν_{C=O} ester) ; 1686 (ν_{C=O} ketone) ; 1637 (ν_{C=C}) ; 1444 (δ_{CHsp3}) ; 1359 (ν_{BO}) ; 1323 (ν_{BO}) ; 1143 (ν_{C-O} ester), 970 (δ_{CHsp2}) ; 848 (δ_{CHsp2})**NMR** ¹H (CDCl₃, 300MHz)

δ(ppm): 6.92 (td, 1H, J=10.0, 3.7Hz, H₄) ; 6.53 (td, 1H, J=17.8, 7.1Hz, H₁₁) ; 6.06 (dt, 1H, J=10.1, 2.0Hz, H₃) ; 5.54 (d, J=17.7Hz, H₁₂) ; 4.19 (q, 2H, J=7.1Hz, H₈) ; 2.78 (dd, 1H, J=13.9, 7.1Hz, H₁₀) ; 2.67 (dd, 1H, J=13.9, 7.1Hz, H_{10'}) ; 2.58-2.48 (m, 1H, H₅) ; 2.45 (dt, 1H, J=13.6, 4.3Hz, H₆) ; 2.39-2.30 (m, 1H, H₅'), 1.97 (ddd, 1H, J=13.7, 9.0, 4.7Hz, H₆) ; 1.32-1.22 (m, 15H, H₉, H₁₅, H₁₆, H₁₇, H₁₈)

NMR ¹³C (CDCl₃, 75MHz)

δ(ppm): 195.4 (C_Q, C₂) ; 171.0 (C_Q, C₇) ; 149.7 (CH, C₁₁) ; 148.1 (CH, C₄) ; 129.0 (CH, C₃) ; 83.4 (C_Q, C₁₃) ; 83.2 (C_Q, C₁₄) ; 61.4 (CH₂, C₈) ; 56.6 (C_Q, C₁) ; 40.2 (CH₂, C₁₀) ; 29.8 (CH₂, C₆) ; 24.8 (2CH₃, C₁₅, C₁₇) ; 24.7 (2CH₃, C₁₆, C₁₈) ; 23.6 (CH₂, C₅) ; 14.1 (CH₃, C₉)

**(4*R*,8*AS*)-ETHYL 2-HYDROXY-3,4,4*A*,5,6,8*A*-HEXAHYDRO-2*H*-
CHROMENE-4*A*-CARBOXYLATE **296****

**Procedure :**

To a stirred solution of boronate ester **292** (10.0 mg, 29.9 μmol , 1.00 equiv.) in THF (430 μL) was added trimethylamine-*N*-oxide (19.9 mg, 0.179 mmol, 6.00 equiv.) ; the resulting mixture was stirred at 65°C overnight. The reaction mixture was quenched with water and the layers were separated. The aqueous layer was extracted with EtOAc. The combined organic extracts were washed with brine and water, dried over MgSO_4 , filtered and concentrated *in vacuo*. The resulting oil was purified by flash chromatography (heptane/EtOAc 100/0 to 30/70) on silica gel to afford a mixture of two diastereoisomers **296** (in proportion 41/59) as a colorless oil (6.1 mg, 90 %).

M.S. (ESI, m/z)209.1 $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}]^+$ 249.1 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ **H.R.M.S.** (ESI, m/z)Calculated for $\text{C}_{12}\text{H}_{18}\text{O}_4\text{Na}^+$: 249.1103 ; Found: 249.1104**I.R.** $\nu(\text{cm}^{-1})$

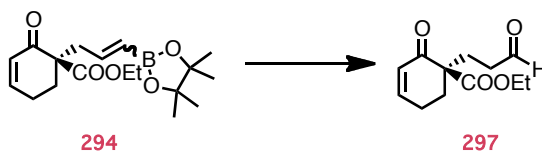
3355 (ν_{OH}) ; 3030 ($\nu_{\text{CHsp}2}$) ; 2944 ($\nu_{\text{CHsp}3}$) ; 2912 ($\nu_{\text{CHsp}3}$) ; 1717 ($\nu_{\text{C=O}}$ ester) ; 1447 ($\delta_{\text{CHsp}3}$) ; 1364 ($\delta_{\text{CHsp}3}$) ; 1264 ($\nu_{\text{C-O}}$ ester) ; 1204 ($\nu_{\text{C-O}}$ ester) ; 1186 ($\nu_{\text{C-O}}$ ester) ; 1082 ($\nu_{\text{C-O}}$ alcohol) ; 1046 ($\nu_{\text{C-O}}$ ether) ; 1000 ($\nu_{\text{C-O}}$ ether) ; 960 ($\nu_{\text{C-O}}$ ether) ; 657 ($\delta_{\text{CHsp}2}$)

NMR ^1H (CDCl_3 , 300MHz)

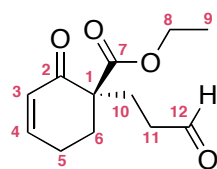
$\delta(\text{ppm})$: 5.88-5.64 (m, 2H, H_4 , H_3) ; 5.09 (dd, 0.6H, $J=4.4$, 3.3Hz, $\text{H}_{7\text{ major}}$) ; 4.84-4.72 (m, 1H, $\text{H}_{7'\text{ minor}}$, $\text{H}_{2'\text{ major}}$) ; 4.32 (dd, 0.4H, $J=4.8$, 1.1Hz, $\text{H}_{2'\text{ minor}}$) ; 4.08 (quint., 2H, $J=7.3\text{Hz}$, H_{11}) ; 3.12 (s, 0.4H, OH_{minor}) ; 2.79 (s, 0.6H, OH_{major}) ; 2.20-1.43 (m, 8H, H_9 , H_8 , H_6 , H_5) ; 1.18 (td, 3H, $J=7.1$, 4.5Hz, H_{12})

NMR ^{13}C (CDCl_3 , 75MHz)

$\delta(\text{ppm})$: 175.4 (C_Q , $\text{C}_{10\text{ major}}$) ; 175.2 (C_Q , $\text{C}_{10\text{ minor}}$) ; 131.9 (CH, $\text{C}_4\text{ minor}$) ; 131.2 (CH, $\text{C}_4\text{ major}$) ; 126.6 (CH, $\text{C}_3\text{ major}$) ; 125.3 (CH, $\text{C}_3\text{ minor}$) ; 96.1 (CH, $\text{C}_7\text{ minor}$) ; 91.4 (CH, $\text{C}_7\text{ major}$) ; 70.8 (CH, $\text{C}_2\text{ major}$) ; 66.2 (CH, $\text{C}_2\text{ minor}$) ; 60.6 (CH_2 , $\text{C}_{11\text{ major}}$) ; 60.5 (CH_2 , $\text{C}_{11\text{ minor}}$) ; 43.6 (C_Q , $\text{C}_1\text{ major}$) ; 43.3 (C_Q , $\text{C}_1\text{ minor}$) ; 31.5 (CH_2) ; 28.2 (CH_2) ; 26.9 (CH_2) ; 26.0 (CH_2) ; 25.4 (CH_2) ; 23.6 (CH_2) ; 23.5 (CH_2) ; 23.0 (CH_2) ; 14.1 (CH_3 , C_{12})

(R)-ETHYL 2-OXO-1-(3-OXOPROPYL)CYCLOHEX-3-ENECARBOXYLATE 297**Procedure :**

To a stirred solution of boronate ester **294** (10 mg, 30.0 μ mol, 1.00 equiv.) in THF (300 μ L) and water (300 μ L) was added $\text{NaBO}_3 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (5.10 mg, 33.0 mmol, 1.10 equiv.). The resulting mixture was stirred at room temperature for 1h30. The reaction mixture was diluted by MTBE, quenched with water and the layers were separated. The aqueous layer was extracted with MTBE. The combined organic extracts were washed with brine and water, dried over Na_2SO_4 , filtered and concentrated *in vacuo*. The product **297** was obtained without purification as a colorless oil (6.1 mg, 90 %).

**297****M.S.**(ESI, m/z)

247.1 $[\text{M}+\text{Na}]^+$
279.1 $[\text{M}+\text{Na}+\text{MeOH}]^+$

H.R.M.S.(ESI, m/z)

Calculated for $\text{C}_{12}\text{H}_{16}\text{O}_4\text{Na}^+$: 247.0946 ; Found: 247.0941

LR $\nu(\text{cm}^{-1})$

3067 (ν_{CHsp^2}) ; 2929 (ν_{CHsp^3}) ; 2359 (ν_{CHsp^3} aldehyde) ; 2339 (ν_{CHsp^3} aldehyde) ; 1723 ($\nu_{\text{C=O}}$ aldehyde + ester) ; 1681 ($\nu_{\text{C=O}}$ ketone) ; 1446 (δ_{CHsp^3}) ; 1388 (δ_{CHsp^3}) ; 1240 ($\nu_{\text{C=O}}$ ester) ; 1192 ($\nu_{\text{C=O}}$ ester)

NMR ^1H (CDCl_3 , 300MHz)

$\delta(\text{ppm})$: 9.70 (t, 1H, $J=1.5\text{Hz}$, H_{12}) ; 6.88-6.79 (m, 1H, H_4) ; 5.97 (dt, 1H, $J=10.0, 2.0\text{Hz}$, H_3) ; 4.11 (q, 2H, $J=7.1\text{Hz}$, H_8) ; 2.70-2.20 (m, 5H, $\text{H}_5, \text{H}_6, \text{H}_{11}$) ; 2.20-1.94 (m, 2H, H_{10}) ; 1.93-1.80 (m, 1H, H_6) ; 1.17 (t, 3H, $J=7.1\text{Hz}$, H_9)

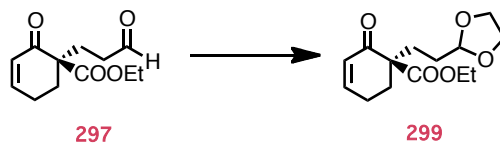
NMR ^{13}C (CDCl_3 , 75MHz)

$\delta(\text{ppm})$: 201.2 (C_Q , C_{12}) ; 196.1 (C_Q , C_2) ; 171.4 (C_Q , C_7) ; 149.2 (CH, C_4) ; 129.2 (CH, C_3) ; 61.5 (CH_2 , C_8) ; 55.9 (C_Q , C_1) ; 39.5 (CH_2 , C_{11}) ; 31.0 (CH_2 , C_6) ; 25.8 (CH_2 , C_{10}) ; 23.6 (CH_2 , C_5) ; 14.1 (CH_3 , C_9)

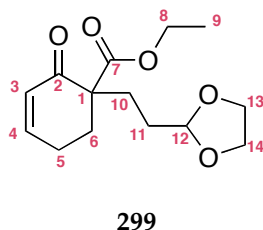
 α_D

+38.6 ($c = 0.156$, CHCl_3)

**ETHYL 1-(2-(1,3-DIOXOLAN-2-YL)ETHYL)-2-OXOCYCLOHEX-3-ENE
CARBOXYLATE **299****

**Procedure :**

Ethyl 2-oxo-1-(3-oxopropyl)cyclohex-3-enecarboxylate **297** (85.0 mg, 0.379 mmol, 1.00 equiv.) was treated with 2-ethyl-2-methyl-1,3-dioxolane (2.50 mL) and a catalytic amount of *p*-toluenesulfonic acid monohydrate (19.8 mg, 0.0379 mmol, 0.10 equiv.) at room temperature for 16h. The resulting mixture was diluted with water and extracted with Et₂O. The ethereal extracts were washed with a saturated NaCl solution and dried over MgSO₄. Solvent was removed by evaporation and the crude mixture was purified by flash chromatography on silica gel (Heptane/EtOAc, 100/0 to 60/40) to give **299** (41.8 mg, 41 %) as a colorless oil.

**M.S.** (ESI, *m/z*)291.1 [M+Na]⁺**H.R.M.S.** (ESI, *m/z*)Calculated for C₁₄H₂₀O₅Na⁺ : 291.1208 ; Measured : 291.1215**IR** ν (cm⁻¹)3097 (ν_{CHsp^2}) ; 3087 (ν_{CHsp^2}) ; 2929 (ν_{CHsp^3}) ; 1726 ($\nu_{\text{C=O}}$ ester) ; 1681 ($\nu_{\text{C=O}}$ ketone) ; 1615 ($\nu_{\text{C=C}}$) ; 1447 (δ_{CHsp^3}) ; 1387 (δ_{CHsp^3}) ; 1238 ($\nu_{\text{C-O}}$ ester) ; 1192 ($\nu_{\text{C-O}}$ ester) ; 1137 ($\nu_{\text{C=O}}$ ether) ; 1097 ($\nu_{\text{C=O}}$ ether) ; 1030 ($\nu_{\text{C=O}}$ ether) ; 945 (δ_{CHsp^2})**NMR** ¹H (CDCl₃, 500MHz) δ (ppm) : 6.82 (ddd, 1H, *J*=10.1, 4.6, 3.1Hz, H₄) ; 5.95 (dt, 1H, *J*=10.2, 2.0Hz, H₃) ; 4.81 (t, 1H, *J*=4.5Hz, H₁₂) ; 4.10 (q, 2H, *J*=7.2Hz, H₈) ; 3.93-3.74 (m, 4H, H₁₃, H₁₄) ; 2.51-2.20 (m, 3H, H₅, H₆) ; 2.05-1.50 (m, 5H, H₁₀, H₁₁, H₆)**NMR** ¹³C (CDCl₃, 75MHz) δ (ppm) : 196.0 (C_Q, C₂) ; 171.4 (C_Q, C₇) ; 149.1 (CH, C₄) ; 129.1 (CH, C₃) ; 104.2 (CH, C₁₂) ; 64.9 (2CH₂, C₁₃, C₁₄) ; 61.3 (CH₂, C₈) ; 56.4 (C_Q, C₁) ; 30.1 (CH₂, C₆) ; 29.0 (CH₂, C₁₀) ; 27.7 (CH₂, C₁₁) ; 23.6 (CH₂, C₅) ; 14.1 (CH₃, C₉)**H.P.L.C.**Eluent: Hexane/EtOH (85/15), column: IC 5 μ m (4,6 x 250 mm), injection volume: 10 μ L, flow: 1.0 mL/min

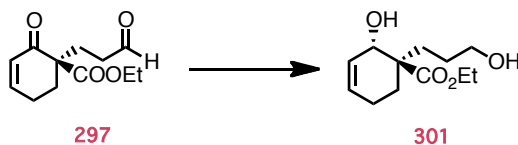
(R) Enantiomere: Retention time: 21.2 min , Area: 89.7 %

(S) Enantiomere: Retention time: 25.5 min , Area: 10.3 %

ee = 79%

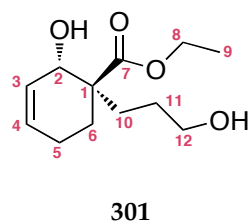
 α_D +22.2 (*c* = 0.140, CHCl₃)

**(1R,2S)-ETHYL 2-HYDROXY-1-(3-HYDROXYPROPYL)CYCLOHEX-3-
ENECARBOXYLATE **301****



Procedure :

To a solution of ketoaldehyde **297** (70.0 mg, 0.312 mmol, 1.00 equiv.) in MeOH (3.10 mL) was added NaBH₄ (5.90 mg, 0.156 mmol, 0.50 eq.) at -78°C. The conversion was monitored by TLC. After completion of the reaction, CeCl₃·7H₂O (128 mg, 0.343 mmol, 1.10 equiv.) was added at -78°C. The suspension was warmed to -50°C until all CeCl₃·7H₂O was dissolved. The solution was cool back to -78°C, then NaBH₄ (13.0 mg, 0.343 mmol, 1.00 equiv.) was added. The solution was stirred for 1h at -78°C then saturated NH₄Cl was added dropwise at this temperature. The mixture was warmed to room temperature then water was added. The aqueous layer was extracted twice with EtOAc. The combined organic layers were washed with water then brine and dried over Na₂SO₄. The solvent was removed under vacuo, then the crude mixture purified through silica gel (heptane to heptane/EtOAc 5/5) to afford the major isomer **301** as a colorless oil (52.9 mg, 74%).



M.S. (ESI, m/z)

251.1 [M+Na]⁺

H.R.M.S. (ESI, m/z)

Calculated for C₁₂H₂₀O₄Na⁺: 251.1259. found: 251.1265

IR ν(cm⁻¹)

3343 (ν_{OH}) ; 2933 (ν_{CHsp3}) ; 1719 (ν_{C=O} ester) , 1018 (ν_{C-O} alcohol)

NMR ¹H (CDCl₃, 300MHz)

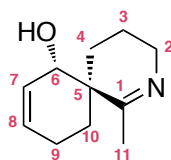
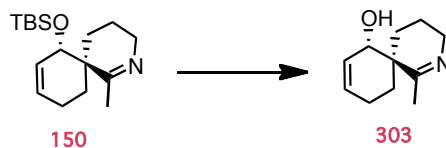
δ(ppm): 5.85-5.68 (m, 2H, H₄, H₃) ; 4.46 (s, 1H, H₂) ; 4.17 (q, 2H, J=7.1Hz, H₈) ; 3.69-3.54 (m, 2H, H₁₂) ; 2.79 (brs, 2H, 2OH) ; 2.08-2.01 (m, 2H) ; 1.92-1.85 (m, 1H) ; 1.81 (t, 2H, J=6.5Hz, H₁₀) ; 1.64-1.44 (m, 4H) ; 1.26 (t, 3H, J =7.1Hz, H₉)

NMR ¹³C (CDCl₃, 75MHz)

δ(ppm): 176.0 (C_Q, C₇) ; 129.6 (CH, C₄) ; 128.1 (CH, C₃) ; 67.6 (CH, C₂) ; 63.0 (CH₂, C₁₂) ; 60.6 (CH₂, C₈) ; 48.9 (C_Q, C₁) ; 28.3 (CH₂) ; 27.3 (CH₂) ; 25.8 (CH₂) ; 22.8 (CH₂) ; 14.2 (CH₃, C₉)

[α]_D²⁵

+59.3 (c = 0.198, CHCl₃)

(6S,7S)-1-METHYL-2-AZASPIRO[5.5]UNDECA-1,8-DIEN-7-OL 303**303****Procedure :**

To a solution of imine **150** (30.3 mg, 0.103 mmol, 1.00 equiv.) in MeOH (1.00 mL) was added concentrated HCl (100 μ L) and the mixture was stirred at 50°C for 3h. The solvent was evaporated under vacuo to afford the iminium **303**. The crude mixture was purified over silica gel (DCM(1%NH₃)/MeOH : 100/0 to 90/10) to afford a white solid (17.0 mg, 92%)

M.S.(ESI, m/z)

180.1 [M+H]⁺

H.R.M.S. (ESI, m/z)

Calculated for C₁₁H₁₈NO⁺: 180.1388, found: 180.1380

I.R ν (cm⁻¹)

3112 (ν_{OH}) ; 3022(ν_{CHsp^2}) ; 2742 (ν_{CHsp^3}) ; 1645 ($\nu_{C=N}$) , 1068 (ν_{C-N})

NMR ¹H (CDCl₃, 300MHz)

Imine form: δ (ppm): 5.68 (m, 1H, H₈) ; 5.54 (dd, 1H, J=10.1, 1.8Hz, H₇) ; 4.66 (s, 1H, H₆) ; 3.53 (m, 2H, H₂) ; 2.94 (brs, 1H, OH) ; 2.05 (m, 2H) ; 2.01 (brs, 3H, H₁₁) ; 1.90-1.78 (m, 2H) ; 1.72 (m, 1H) ; 1.62-1.54 (m, 2H) ; 1.51 (m, 1H)

Enamine form: δ (ppm): 5.85 (m, 1H) ; 5.75 (m, 1H) ; 4.05 (d, 1H, J=4.5Hz) ; 3.68 (m, 1H) ; 2.28 (m, 1H) ; other signals are masked by the imine form

NMR ¹³C (CDCl₃, 75MHz)

δ (ppm): 172.4 (C_Q, C₁) ; 129.7 (CH, C₈) ; 127.7 (CH, C₇) ; 70.6 (CH, C₆) ; 49.6 (CH₂, C₂) ; 43.1 (C_Q, C₅) ; 29.3 (CH₂) ; 22.3 (CH₃, C₁₁) ; 21.6 (CH₂) ; 21.6 (CH₂) ; 19.7 (CH₂)

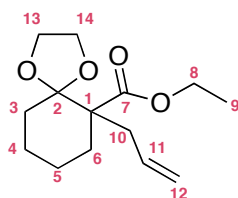
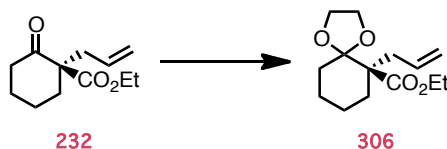
[α]_D²⁵

+ 5.0 (c = 0.420, CHCl₃)

m.p.

110-112°C

ETHYL 6-ALLYL-1,4-DIOXASPIRO [4,5] DECANE-6-CARBOXYLATE **306**

**306****Procedure :**

A solution of ethyl 1-allyl-2-oxocyclohexanecarboxylate **232** (100 mg, 0.476 mmol, 1.00 equiv.), ethylene glycol (133 μ L, 2.38 mmol, 5.00 equiv.) and *p*-toluene sulfonic acid (8.18 mg, 480 μ mol, 0.10 equiv.) in toluene (12.0 mL) was heated under reflux overnight using a Dean-Stark trap. After cooling, the reaction mixture was extracted three times with dichloromethane and the combined extracts were washed with brine and water, dried over MgSO_4 filtered and concentrated *in vacuo*. The residual material was purified by flash chromatography (heptane/AcOEt 90/10) on silica gel to give the product **306** as a colorless oil (107 mg, 86 %).

M.S. (ESI, m/z)277.1 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ **H.R.M.S.** (ESI, m/z)Calculated for $\text{C}_{14}\text{H}_{22}\text{O}_4\text{Na}^+$: 277.1416 ; Found: 277.1406**IR** $\nu(\text{cm}^{-1})$

3075 (ν_{CHsp^2}) ; 1722 ($\nu_{\text{C=O}}$ ester) ; 1640 ($\nu_{\text{C=C}}$) ; 1210 ($\nu_{\text{C-O}}$ ester) ; 1131 ($\nu_{\text{C-O}}$ ether) ; 1092 ($\nu_{\text{C-O}}$ ether) ; 1081 ($\nu_{\text{C-O}}$ ether) ; 1045 ($\nu_{\text{C-O}}$ ether) ; 958 ($\nu_{\text{C-O}}$ ether) ; 914 (δ_{CHsp^2})

NMR ^1H (CDCl_3 , 300MHz)

$\delta(\text{ppm})$: 5.58 (dddd, 1H, $J=17.0, 10.1, 8.0, 6.6\text{Hz}$, H_{11}) ; 5.02-4.90 (m, 2H, H_{12}) ; 4.08 (qd, 2H, $J=7.1, 2.1$, H_8) ; 3.91-3.80 (m, 4H, $\text{H}_{13}, \text{H}_{14}$) ; 2.74 (dd, 1H, $J=13.9, 6.6\text{Hz}$, H_{10}) ; 2.28 (dd, 1H, $J=13.9, 8.0\text{Hz}$, $\text{H}_{10'}$) ; 1.94 (ddd, 1H, $J=10.1, 9.5, 4.1\text{Hz}$, H_6) ; 1.71-1.28 (m, 7H, $\text{H}_4, \text{H}_3, \text{H}_5, \text{H}_6'$) ; 1.19 (t, 3H, $J=7.1\text{Hz}$, H_9)

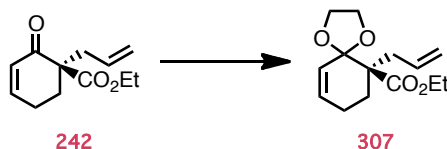
NMR ^{13}C (CDCl_3 , 75MHz)

$\delta(\text{ppm})$: 173.5 (C_Q, C_7) ; 134.2 (CH, C_{11}) ; 117.5 ($\text{CH}_2, \text{C}_{12}$) ; 110.8 (C_Q, C_2) ; 64.9 ($\text{CH}_2, \text{C}_{13}$) ; 64.6 ($\text{CH}_2, \text{C}_{14}$) ; 60.4 (CH_2, C_8) ; 54.4 (C_Q, C_1) ; 36.1 ($\text{CH}_2, \text{C}_{10}$) ; 32.2 (CH_2, C_6) ; 30.1 (CH_2, C_3) ; 23.1 (CH_2, C_4) ; 20.8 (CH_2, C_5) ; 14.3 (CH_3, C_9)

Reference

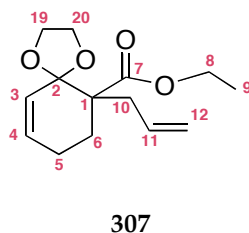
Aburel, P. S.; Romming, C.; Ma, K.; Undheim, K. *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 1* **2001**, 1458-1472.

ETHYL 6-ALLYL-1,4-DIOXASPIRO[4.5]DEC-9-ENE-6-CARBOXYLATE **307**



Procedure :

A solution of ethyl 1-allyl-2-oxocyclohex-3-enecarboxylate **242** (300 mg, 1.44 mmol, 1.00 equiv.), ethylene glycol (402 μ L, 7.20 mmol, 5.00 equiv.) and *p*-toluene sulfonic acid (26.8 mg, 144 μ mol, 0.10 equiv.) in toluene (30.0 mL) was heated under reflux for 5 h using a Dean-Stark trap. After cooling, the reaction mixture was extracted three times with ethyl acetate and the combined extracts were washed with brine and water, dried over MgSO_4 filtered and concentrated *in vacuo*. The residual material was purified by flash chromatography (heptane/AcOEt 100/0 to 70/30) on silica gel to give the product **307** as a colorless oil (190 mg, 50 %).



S.M (ESI, m/z)

253.1 $[\text{M}+\text{H}]^+$
 275.1 $[\text{M}+\text{Na}]^+$
 307.2 $[\text{M}+\text{Na}+\text{MeOH}]^+$

S.M.H.R (ESI, m/z)

Calculated for $\text{C}_{14}\text{H}_{21}\text{O}_4^+$: 253.1440 ; Found: 253.1442

I.R $\nu(\text{cm}^{-1})$

3074 ($\nu_{\text{CHsp}2}$) ; 3029 ($\nu_{\text{CHsp}2}$) ; 2978 ($\nu_{\text{CHsp}3}$) ; 2898 ($\nu_{\text{CHsp}3}$) ; 1721 ($\nu_{\text{C=O}}$ ester) ; 1639 ($\nu_{\text{C=C}}$) ; 1216 ($\nu_{\text{C-O}}$ ester), 1018 ($\nu_{\text{C-O}}$ ether) ; 859 ($\delta_{\text{CHsp}2}$) ; 666 ($\delta_{\text{CHsp}2}$)

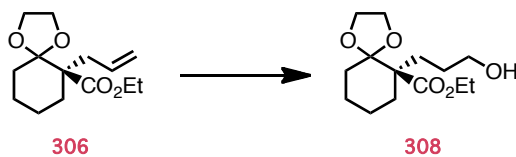
RMN ^1H (CDCl_3 , 300MHz)

$\delta(\text{ppm})$: 5.70-5.53 (m, 2H, H_4 , H_{11}) ; 5.52-5.42 (m, 1H, H_3) ; 5.03-4.94 (m, 2H, H_{12}) ; 4.10 (qd, 2H, $J=7.2$, 4.6Hz, H_8) ; 3.97-3.80 (m, 4H, H_{13} , H_{14}) ; 2.76-2.64 (m, 2H, H_5 , H_{10}) ; 2.24-2.20 (m, 2H, H_6) ; 2.20-2.09 (m, 2H, H_5 , H_{10}) ; 1.19 (t, 3H, $J=7.1\text{Hz}$, H_9)

RMN ^{13}C (CDCl_3 , 75MHz)

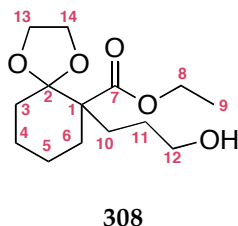
$\delta(\text{ppm})$: 172.9 (C_Q , C_7) ; 133.8 (CH , C_{11}) ; 125.5 (CH , C_4) ; 123.7 (CH , C_3) ; 118.1 (CH_2 , C_{12}) ; 109.7 (C_Q , C_2) ; 65.4 et 64.8 (2CH_2 , C_{13} , C_{14}) ; 60.7 (CH_2 , C_8) ; 52.9 (C_Q , C_1) ; 36.3 (CH_2 , C_{10}) ; 34.8 (CH_2 , C_6) ; 32.0 (CH_2 , C_5) ; 14.2 (CH_3 , C_9)

ETHYL 6-ALLYL-1,4-DIOXASPIRO[4.5]DECANE-6-CARBOXYLATE **306**



Procedure :

To a solution of ethyl 6-allyl-1,4-dioxaspiro-[4,5]-decane-6-carboxylate **306** (100 mg, 0.396 mmol, 1.00 equiv.) in THF (4.00 mL) at room temperature was added borane tetrahydrofuran complex solution (1.00 M in THF) (472 μ L, 0.472 mmol, 1.20 equiv.). The reaction mixture was stirred continuously overnight at room temperature and then cooled in an ice-bath. NaOH 3N (135 μ L, 450 μ mol, 0.10 equiv.) and H₂O₂ 30% (48.2 μ L, 0.472 mmol, 1.20 equiv.) were added and the reaction was stirred for 2h at room temperature. The organic layer was separated and the aqueous phase was extracted with ethyl acetate. The combined organic layers were washed with brine, dried over anhydrous MgSO₄, filtered, and concentrated *in vacuo*. The product **308** was obtained without purification (degradation) as a colorless oil (103 mg, 96%).



M.S. (ESI, m/z)

295.2 [M+Na]⁺

H.R.M.S. (ESI, m/z)

Calculated for C₁₄H₂₄O₅Na⁺: 295.1521 ; Found: 295.1517

IR ν (cm⁻¹)

3451 (ν_{OH} alcohol) ; 2932 (ν_{CHsp3}) ; 2866 (ν_{CHsp3}) ; 1721 ($\nu_{C=O}$ ester) ; 1445 (δ_{CHsp3}) ; 1354 (δ_{CHsp3}) ; 1175 (ν_{C-O} ether) ; 1033 (ν_{CO} alcohol)

NMR ¹H (CDCl₃, 300MHz)

δ (ppm): 4.19 (qd, 2H, J=7.2Hz, H₈) ; 4.03-3.86 (m, 4H, H₁₃, H₁₄) ; 3.63 (m, 2H, H₁₂) ; 2.16-2.00 (m, 1H, H₆) ; 1.85-1.35 (m, 11H, H₃, H₄, H₅, H_{6'}, H₁₀, H₁₁) ; 1.29 (t, 3H, J=7.2Hz, H₉)

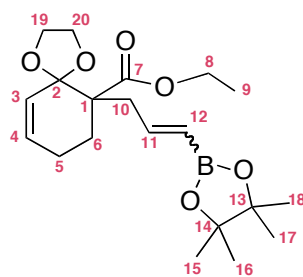
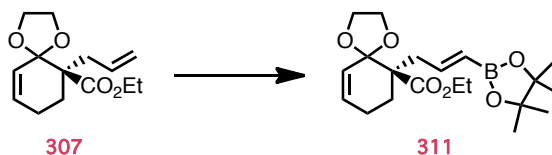
NMR ¹³C (CDCl₃, 75MHz)

δ (ppm): 174.0 (C_Q, C₇) ; 111.1 (C_Q, C₂) ; 64.8 (CH₂, C₁₃) ; 64.6 (CH₂, C₁₄) ; 63.4 (CH₂, C₁₂) ; 60.4 (CH₂, C₈) ; 54.2 (C_Q, C₁) ; 32.0 (CH₂, C₆) ; 29.6 (CH₂, C₁₀) ; 27.8 (CH₂, C₁₁) ; 27.3 (CH₂, C₃) ; 23.1 (CH₂, C₄) ; 20.7 (CH₂, C₅) ; 14.2 (CH₃, C₉)

Reference

Ando, K.; Yasuda, K.; Tomioka, K.; Koga, K. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1994**, 277-282.

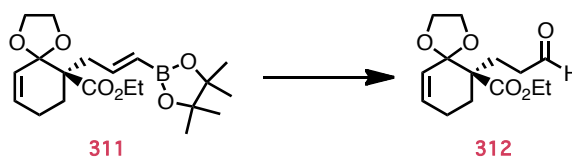
ETHYL 6-(3-(4,4,5,5-TETRAMETHYL-1,3,2-DIOXABOROLAN-2-YL)ALLYL)-1,4-DIOXASPIRO[4.5]DEC-9-ENE-6-CARBOXYLATE **311**

**311****Procedure :**

To a stirred and degazed solution of allyl ketal **307** (400 mg, 1.59 mmol, 1.00 equiv.) and vinyl boronic acid pinacol ester (1.34 mL, 7.93 mmol, 5.00 equiv.) in toluene (16.0 mL) was added Hoveyda-Grubbs' catalyst II (99.6 mg, 0.159 mmol, 10.0 % mol). The mixture was heated at 60°C overnight then cooled to ambient temperature, filtered through celite® (EtOAc eluent) and the solvent was evaporated *in vacuo*. The resulting residue was purified by flash column chromatography (heptane/AcOEt 100/0 to 80/20) on silica gel. The product **311** was obtained as a colorless oil (473 mg, 79 %) and contained a mixture of (*E*) and (*Z*)-boronate (80/20).

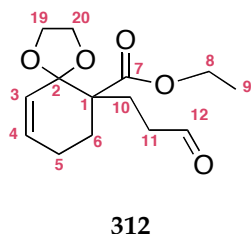
S.M (ESI, m/z)401.2 [M+Na]⁺**S.M.H.R** (ESI, m/z)Calculated for C₂₀H₃₁O₆NaB⁺: 401.2111 ; Found: 401.2113**LR** ν(cm⁻¹)3056 (ν_{CHsp2}) ; 2977 (ν_{CHsp3}) ; 2929 (ν_{CHsp3}) ; 1725 (ν_{C=O ester}) ; 1636 (ν_{C=C}) ; 1444 (δ_{CHsp3}) ; 1390 (δ_{CHsp3}) ; 1361 (ν_{BO}) ; 1322 (ν_{BO}) ; 1143 (ν_{C-O ester}) , 969 (δ_{CHsp2}) ; 848 (δ_{CHsp2})**RMN ¹H** (CDCl₃, 300MHz)δ(ppm): 6.40 (dt, 1H, J=17.7, 7.2Hz, H₁₁) ; 5.66-5.57 (m, 1H, H₄) ; 5.51-5.43 (m, 1H, H₃) ; 5.39 (dt, 1H, J=17.7, 2.7Hz, H₁₂) ; 4.10 (q, 2H, J=7.0Hz, H₈) ; 3.97-3.80 (m, 4H, H₁₉, H₂₀) ; 2.84-2.66 (m, 2H, H₁₀, H₅) ; 2.30-2.13 (m, 4H, H₅, H₆, H₁₀) ; 1.19-1.15 (m, 15H, H₉, H₁₅, H₁₆, H₁₇, H₁₈)**RMN ¹³C** (CDCl₃, 75MHz)δ(ppm): 172.8 (C_Q, C₇) ; 149.0 (CH, C₁₁) ; 125.5 (CH, C₄) ; 123.7 (CH, C₃) ; 109.6 (C_Q, C₂) ; 83.0 (2CH₂, C₁₃, C₁₄) ; 65.4 (CH₂, C₁₉) ; 64.7 (CH₂, C₂₀) ; 60.8 (CH₂, C₈) ; 52.8 (C_Q, C₁) ; 38.3 (CH₂, C₁₀) ; 34.7 (CH₂, C₆) ; 32.0 (CH₂, C₅) ; 24.77 (2CH₃, C₁₅, C₁₇) ; 24.72 (2CH₃, C₁₆, C₁₈) ; 14.2 (CH₃, C₉)

ETHYL 6-(3-OXOPROPYL)-1,4-DIOXASPIRO[4.5]DEC-9-ENE-6-CARBOXYLATE **312**



Procedure :

To a stirred solution of boronate ester **311** (400 mg, 1.06 mmol, 1.00 equiv.) in THF (20.0 mL) was added trimethylamine-*N*-oxide (724 mg, 6.34 mmol, 6.00 equiv.) ; the resulting mixture was stirred at 80°C overnight. The reaction mixture was quenched with water and the layers were separated. The aqueous layer was extracted with EtOAc. The combined organic extracts were washed with brine and water, dried over MgSO₄, filtered and concentrated *in vacuo*. The resulting oil was purified by flash chromatography (heptane/EtOAc 100/0 to 70/30) on silica gel to afford the pure compound **312** as a colorless oil (169 mg, 59 %).



S.M (ESI, m/z)

291.1 [M+Na]⁺
323.2 [M+Na+MeOH]⁺

S.M.H.R (ESI, m/z)

Calculated for C₁₄H₂₀O₅Na⁺: 291.1208 ; Found: 291.1210

I.R v(cm⁻¹)

3030 (ν_{CHsp2}) ; 2978 (ν_{CHsp3}) ; 2898 (ν_{CHsp3}) ; 1716 (ν_{C=O}) ; 1446 (δ_{CHsp3}) ; 1189 (ν_{C-O ester}) ; 1082 (ν_{C-O ether}) ; 1020 (ν_{C-O ether}) ; 859 (δ_{CHsp2})

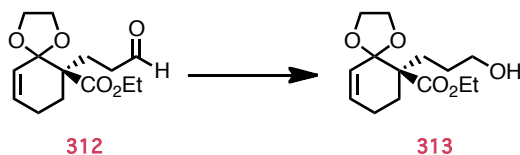
RMN ¹H (CDCl₃, 300MHz)

δ(ppm): 9.76 (t, 1H, J=1,3Hz, H₁₂) ; 5.73-5.64 (m, 1H, H₄) ; 5.61-5.53 (m, 1H, H₃) ; 4.18 (qd, 2H, J=7.1, 1.8Hz, H₈) ; 4.06-3.92 (m, 4H, H₁₃, H₁₄) ; 2.80 (dtd, 1H, J=17.6, 3.9, 1.8Hz, H₅) ; 2.49-2.40(m, 2H, H₁₁) ; 2.39-2.27 (m, 3H, H₆, H₁₀) ; 2.26-2.14 (m, 1H, H₅) ; 1.90-1.78 (m, 1H, H₁₀) ; 1.27 (t, 3H, J=7.1Hz, H₉)

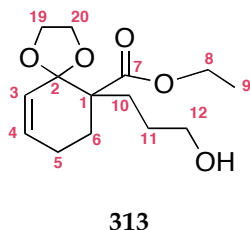
RMN ¹³C (CDCl₃, 75MHz)

δ(ppm): 201.6 (CH, C₁₂) ; 172.9 (C_Q, C₇) ; 125.1 (CH, C₄) ; 124.1 (CH, C₃) ; 109.7 (C_Q, C₂) ; 65.4 et 64.7 (2CH₂, C₁₃, C₁₄) ; 60.9 (CH, C₈) ; 52.2 (C_Q, C₁) ; 39.6 (CH₂, C₁₁) ; 34.7 (CH₂, C₁₀) ; 32.7 (CH₂, C₅) ; 23.9 (CH₂, C₆) ; 14.2 (CH₃, C₉)

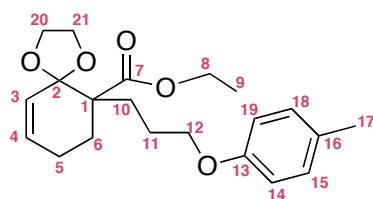
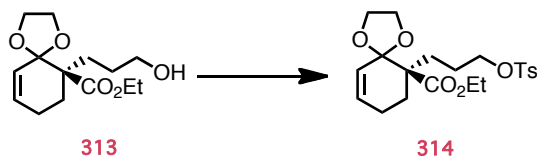
ETHYL 6-(3-HYDROXYPROPYL)-1,4-DIOXASPIRO[4.5]DEC-9-ENE-6-CARBOXYLATE **313**

**Procedure :**

To a solution of aldehyde **312** (100 mg, 0.373 mmol, 1.00 equiv.) in EtOH (19.0 mL) was added NaBH₄ (14.1 mg, 0.156 mmol, 1.00 eq.) at -78°C. The solution was stirred for 2h at -78°C then the solvent was removed by evaporation. The mixture was quenched with water and extracted with EtOAc (x3). The combined organic extracts were washed with brine and water, dried over MgSO₄, filtered and concentrated *in vacuo*. The crude was purified through silica gel (heptane/EtOAc 5/5) to afford the major isomer **313** as a colorless oil (73.4 mg, 73%).

**S.M** (ESI, m/z)293.1 [M+Na]⁺**S.M.H.R** (ESI, m/z)Calculated for C₁₄H₂₂O₅Na⁺: 293.1365 ; Found: 293.1355**I.R** ν(cm⁻¹)3441 (ν_{OH}) ; 3030 (ν_{CHsp2}) ; 2936 (ν_{CHsp3}) ; 1720 (ν_{C=O} ester) ; 1445 (δ_{CHsp3}) ; 1094 (ν_{C-O} ether) ; 1021 (ν_{C-O} alcohol) ; 859 (δ_{CHsp2})**RMN ¹H** (CDCl₃, 300MHz)δ(ppm): 5.68-5.58 (m, 1H, H₄) ; 5.52-5.42 (m, 1H, H₃) ; 4.11 (q, 2H, J=7.0Hz, H₈) ; 3.97-3.78 (m, 4H, H₁₃, H₁₄) ; 3.53 (m, 2H, H₁₂) ; 2.81-2.68 (m, 1H, H₅) ; 2.23-2.10 (m, 3H, H₅, H₆) ; 2.02-1.81 (m, 2H, H₁₀, OH) ; 1.56-1.25 (m, 3H, H₁₀, H₁₁) ; 1.20 (t, 3H, J=7.1Hz, H₉)**RMN ¹³C** (CDCl₃, 75MHz)δ(ppm): 173.5 (C_Q, C₇) ; 125.5 (CH, C₄) ; 123.8 (CH, C₃) ; 109.8 (C_Q, C₂) ; 65.3 et 64.7 (2CH₂, C₁₃, C₁₄) ; 63.1 (CH₂, C₁₂) ; 60.7 (CH₂, C₈) ; 52.9 (C_Q, C₁) ; 34.7 (CH₂, C₆) ; 32.0 (CH₂, C₅) ; 27.8 et 27.7 (2CH₂, C₁₀, C₁₁) ; 14.1 (CH₃, C₉)

ETHYL 6-(3-(*P*-TOLYLOXY)PROPYL)-1,4-DIOXASPIRO[4.5]DEC-9-ENE-6-CARBOXYLATE **314**

**314****Procedure :**

To a solution of alcohol **313** (50.0 mg, 0.185 mmol, 1.00 equiv.) in dry dichloromethane (1.90 mL) was added Et₃N (61.9 μ L, 0.444 mmol, 2.40 equiv.), then *p*-toluenesulfonyl chloride (42.3 mg, 0.222 mmol, 1.20 eq.) at 0°C. The mixture was stirred overnight at room temperature then water was added. The aqueous layer was extracted with dichloromethane. The combined organic extracts were washed with water, brine and dried over MgSO₄. The residue was purified by flash chromatography (heptane to heptane/EtOAc 6/4) to give the desired compound **314** as a colorless oil (38.4 mg, 50%)

S.M (ESI, m/z)447.1 [M+Na]⁺**S.M.H.R** (ESI, m/z)Calculated for C₂₁H₂₈O₇NaS⁺: 447.1453 ; Found: 447.1444**LR** ν (cm⁻¹)

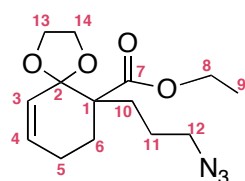
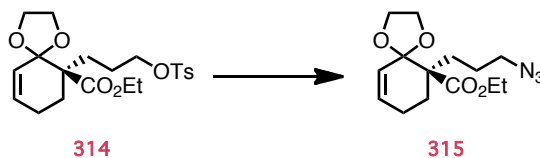
3032 (ν_{CHsp^2}) ; 2917 (ν_{CHsp^3}) ; 1720 ($\nu_{\text{C=O}}$ ester) ; 1598 ($\nu_{\text{C=C}}$) ; 1446 (δ_{CHsp^3}) ; 1356 ($\nu_{\text{C-O}}$ ester) ; 1188 ($\nu_{\text{C-O}}$ ether) ; 1174 ($\nu_{\text{C-O}}$ ether) ; 1096 ($\nu_{\text{C-O}}$ ether) ; 815 (δ_{CHsp^2}) ; 661 (δ_{CHsp^2})

RMN ¹H (CDCl₃, 300MHz)

δ (ppm): 7.71 (d, 2H, J=8.4Hz, H₁₄, H₁₉) ; 7.27 (d, 2H, J=8.3Hz, H₁₅, H₁₈) ; 5.64-5.41 (m, 2H, H₃, H₄) ; 4.06 (qd, 2H, J=7.3, 3.8Hz, H₈) ; 3.96-3.77 (m, 4H, H₁₂, H₂₀, H₂₁) ; 2.68 (dtd, 1H, J=17.7, 3.8, 1.9Hz, H₅) ; 2.38 (s, 3H, H₁₇) ; 2.20-2.12 (m, 2H, H₆) ; 2.06 (dtd, 1H, J=17.7, 3.6, 1.7Hz, H₅) ; 1.92-1.80 (m, 1H, H₁₀) ; 1.62-1.32 (m, 3H, H₁₀, H₁₁) ; 1.16 (t, 3H, J=7.1Hz, H₉)

RMN ¹³C (CDCl₃, 75MHz)

δ (ppm): 173.0 (C_Q, C₇) ; 144.7 (C_Q, C₁₃) ; 133.2 (C_Q, C₁₆) ; 129.8 (2CH, C₁₅, C₁₈) ; 127.9 (2CH, C₁₄, C₁₉) ; 125.2 (CH, C₄) ; 124.0 (CH, C₃) ; 109.6 (C_Q, C₂) ; 70.8 (CH₂, C₁₂) ; 65.4 (CH₂, C₂₀) ; 64.7 (CH₂, C₂₁) ; 60.8 (CH₂, C₈) ; 52.6 (C_Q, C₁) ; 34.7 (CH₂, C₆) ; 32.3 (CH₂, C₅) ; 27.7 (CH₂, C₁₀) ; 24.4 (CH₂, C₁₁) ; 21.6 (CH₃, C₁₇) ; 14.1 (CH₃ ; C₉)

ETHYL 6-(3-AZIDOPROPYL)-1,4-DIOXASPIRO[4.5]DEC-9-ENE-6-CARBOXYLATE 315
**315****Procedure :**

To a solution of ketal **314** (35.0 mg, 0.082 mmol, 1.00 equiv.) in DMF (1.64 mL) was added NaN_3 (53.6 mg, 0.820 mmol, 10.0 equiv.) was added at room temperature. The mixture was stirred for 3h at 80°C then cooled to ambient temperature. Water was added and the aqueous layer was extracted with dichloromethane. The combined organic extracts were washed with water, brine and dried over MgSO_4 . The residue was purified by flash chromatography (heptane/EtOAc 8/2 to 6/4) to give the desired alkyl azide **315** as a colorless oil (15.7 mg, 65%)

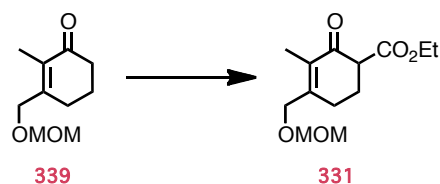
S.M (ESI, m/z)268.2 $[\text{M}+\text{H}-\text{N}_2]^+$ 359.2 $[\text{M}+\text{Na}+\text{ACN}]^+$ **S.M.H.R** (ESI, m/z)Calculated for $\text{C}_{14}\text{H}_{22}\text{NO}_4^+$: 268.1549 ; Found: 268.1545**LR** $\nu(\text{cm}^{-1})$ 2918 ($\nu_{\text{CHsp}3}$) ; 2092 (ν_{N_3}) ; 1671 ($\nu_{\text{C=O}}$) ; 1451 ($\delta_{\text{CHsp}3}$) ; 916 ($\delta_{\text{CHsp}2}$)**RMN ^1H** (CDCl_3 , 300MHz)

$\delta(\text{ppm})$: 5.75-5.66 (m, 1H, H_4) ; 5.61-5.52 (m, 1H, H_3) ; 4.26-4.12 (m, 2H, H_8) ; 4.06-3.88 (m, 4H, H_{13} , H_{14}) ; 3.26 (t, 2H, $\text{J}=5.7\text{Hz}$, H_{12}) ; 2.75 (dtd, 1H, H_5) ; 2.24-2.18 (m, 2H, H_6) ; 2.15 (dtd, 1H, $\text{J}=18.1, 4.0, 2.2\text{Hz}$, H_5) ; 1.56-1.36 (m, 4H, H_{10} , H_{11}) ; 1.20 (t, 3H, $\text{J}=7.2\text{Hz}$, H_9)

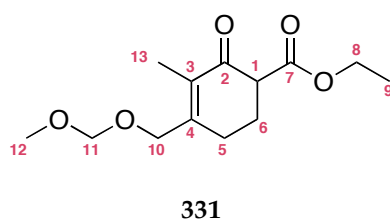
RMN ^{13}C (CDCl_3 , 75MHz)

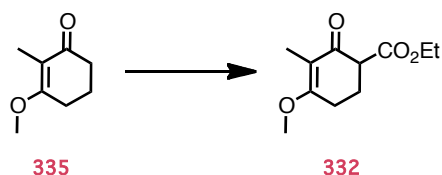
$\delta(\text{ppm})$: 173.1 (C_Q , C_7) ; 125.3 (CH, C_4) ; 123.9 (CH, C_3) ; 109.7 (C_Q , C_2) ; 65.4 (CH_2 , C_{13}) ; 64.7 (CH_2 , C_{14}) ; 60.8 (CH_2 , C_8) ; 52.8 (C_Q , C_1) ; 51.8 (CH_2 , C_{12}) ; 34.7 (CH_2 , C_6) ; 32.2 (CH_2 , C_5) ; 28.8 (CH_2 , C_{10}) ; 24.2 (CH_2 , C_{11}) ; 14.2 (CH_3 , C_9)

ETHYL 4-((METHOXYMETHOXY)METHYL)-3-METHYL-2-OXOCYCLOHEX-3-ENECARBOXYLATE **331**

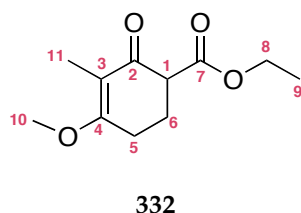
**Procedure :**

LDA was generated by dropwise addition of *n*-BuLi solution (1.4 M in hexane, 140 μ L, 0.196 mmol, 1.20 equiv.) to a solution of diisopropylamine (29.7 μ L, 0.212 mmol, 1.30 equiv.) in THF (330 μ L) cooled to -78°C . After stirring for an additional 15 min at room temperature, the reaction mixture was cooled to -78°C , and a solution of the corresponding ketone **339** (30.0 mg, 0.163 mmol, 1.00 equiv.) in THF (330 μ L) was added dropwise. After stirring at -78°C for 1 h, HMPA (28.4 μ L, 0.163 mmol, 1.00 equiv.) and ethylcyanoformate (19.4 μ L, 0.196 mmol, 1.20 equiv.) were added successively. The reaction was stirred for an additional 2h30 before being quenched by slow addition of a saturated aqueous NH_4Cl at -78°C . Upon warming to room temperature, the crude reaction mixture was poured into water and extracted with MTBE. The combined organic phases were dried over MgSO_4 , filtered, and concentrated under reduced pressure. Purification of the residue by flash chromatography on silica gel (heptane/EtOAc 100/0 to 70/30) gave keto-ester **331** (31.6 mg, 76 %) as a yellow oil.

**M.S.** (ESI, m/z)257.1 $[\text{M}+\text{H}]^+$ **H.R.M.S.** (ESI, m/z)Calculated for $\text{C}_{13}\text{H}_{21}\text{O}_5^+$: 257.1389 ; Found: 257.1390**I.R.** $\nu(\text{cm}^{-1})$ 2976 (ν_{CHsp^3}) ; 2938 (ν_{CHsp^3}) ; 2880 (ν_{CHsp^3}) ; 1736 ($\nu_{\text{C=O}}$ ester) ; 1671 ($\nu_{\text{C=O}}$ ketone) ; 1636 ($\nu_{\text{C=C}}$) ; 1148 ($\nu_{\text{C-O}}$ ester) ; 1038 ($\nu_{\text{C-O}}$ ether) ; 920 (δ_{CHsp^2})**NMR ^1H** (CDCl_3 , 300MHz) $\delta(\text{ppm})$: 4.67 (s, 2H, H_{11}) ; 4.32-4.16 (m, 4H, H_{10} , H_8) ; 3.45-3.36 (m, 4H, H_{12} , H_1) ; 2.68-2.54 (m, 1H, H_5) ; 2.54-2.43 (m, 1H, H_5) ; 2.40-2.30 (m, 1H, H_6) ; 2.26-2.17 (m, 1H, H_6) ; 1.83 (s, 3H, H_{13}) ; 1.30 (t, 3H, $\text{J}=7.1\text{Hz}$, H_9)**NMR ^{13}C** (CDCl_3 , 75MHz) $\delta(\text{ppm})$: 194.2 (C_Q , C_2) ; 170.5 (C_Q , C_7) ; 153.4 (C_Q , C_4) ; 131.5 (C_Q , C_3) ; 96.3 (CH_2 , C_{11}) ; 67.2 (CH_2 , C_{10}) ; 61.1 (CH_2 , C_8) ; 55.5 (CH_3 , C_{12}) ; 53.1 (CH , C_1) ; 26.1 (CH_2 , C_5) ; 25.2 (CH_2 , C_6) ; 14.2 (CH_3 , C_9) ; 10.6 (CH_3 , C_{13})

ETHYL 4-METHOXY-3-METHYL-2-OXOCYCLOHEX-3-ENECARBOXYLATE **332****Procedure :**

LDA was generated by dropwise addition of *n*-BuLi solution (1.4 M in hexane, 329 μ L, 0.428 mmol, 1.20 equiv.) to a solution of diisopropylamine (65.0 μ L, 0.464 mmol, 1.30 equiv.) in THF (714 μ L) cooled to -78°C . After stirring for an additional 15 min at room temperature, the reaction mixture was cooled to -78°C , and a solution of 3-methoxy-2-methylcyclohex-2-enone **335** (50.0 mg, 0.357 mmol, 1.00 equiv.) in THF (714 μ L) was added dropwise. After stirring at -78°C for 1 h, HMPA (62.1 μ L, 0.357 mmol, 1.00 equiv.) and ethylcyanoformate (42.3 μ L, 0.428 mmol, 1.20 equiv.) were added successively. The reaction was stirred for an additional 2h30 before being quenched by slow addition of saturated aqueous NH_4Cl at -78°C . Upon warming to room temperature, the crude reaction mixture was extracted with EtOAc. The combined organic phases were dried over MgSO_4 , filtered, and concentrated under reduced pressure. Purification by flash chromatography on silica gel (heptane/EtOAc 100/0 to 70/30) gave keto-ester **332** (53.7 mg, 72 %) as a white solid.

**M.S.** (ESI, m/z)213.1 $[\text{M}+\text{H}]^+$ **H.R.M.S.** (ESI, m/z)Calculated for $\text{C}_{11}\text{H}_{17}\text{O}_4^+$: 213.1127 ; Found: 213.1133**I.R.** $\nu(\text{cm}^{-1})$ 2979 (ν_{CHsp^3}) ; 2950 (ν_{CHsp^3}) ; 1730 ($\nu_{\text{C=O}}$ ester) ; 1643 ($\nu_{\text{C=C}}$) ; 1613 ($\nu_{\text{C=O}}$ ketone) ; 1461 (δ_{CHsp^3}) ; 1378 ($\nu_{\text{C-O}}$) ; 1356 ($\nu_{\text{C-O}}$) ; 1227 ($\nu_{\text{C-O}}$) ; 1251 ($\nu_{\text{C-O}}$) ; 1159 ($\nu_{\text{C-O}}$) ; 1115 ($\nu_{\text{C-O}}$) ; 929 (δ_{CHsp^2})**NMR ^1H** (CDCl_3 , 300MHz)

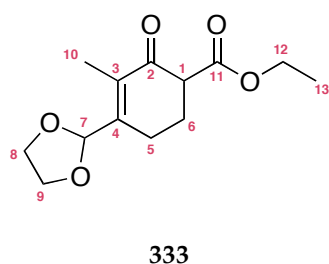
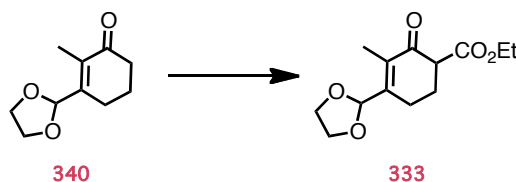
$\delta(\text{ppm})$: 4.14 (qd, 2H, $J=7.2, 3.0\text{Hz}$, H_8) ; 3.76 (s, 3H, H_{10}) ; 3.24 (dd, 1H, $J=9.2, 5.0\text{Hz}$, H_1) ; 2.70 (dtd, 1H, $J=17.6, 5.7, 1.4\text{Hz}$, H_5) ; 2.54-2.40 (m, 1H, H_5) ; 2.28 (dddd, 1H, $J=13.4, 9.3, 7.9, 5.4\text{Hz}$, H_6) ; 2.11 (ddt, 1H, $J=13.4, 5.9, 5.5\text{Hz}$, H_6) ; 1.63 (t, 3H, $J=1.6\text{Hz}$, H_{11}) ; 1.21 (t, 3H, $J=7.2\text{Hz}$, H_9)

NMR ^{13}C (CDCl_3 , 75MHz)

$\delta(\text{ppm})$: 193.0 (C_Q , C_2) ; 171.5 (C_Q , C_4) ; 170.6 (C_Q , C_7) ; 114.3 (C_Q , C_3) ; 61.1 (CH_2 , C_8) ; 55.2 (CH_3 , C_{10}) ; 51.6 (CH , H_1) ; 23.5 (CH_2 , C_6) ; 23.2 (CH_2 , C_5) ; 14.2 (CH_3 , C_9) ; 7.5 (CH_3 , C_{11})

m.p.69.7-71.4 $^{\circ}\text{C}$

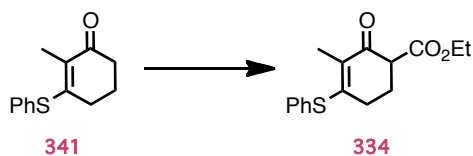
**ETHYL 4-(1,3-DIOXOLAN-2-YL)-3-METHYL-2-OXOCYCLOHEX-3-
ENECARBOXYLATE **333****

**Procedure :**

LDA was generated by dropwise addition of *n*-BuLi solution (1.4 M in hexane, 2.30 mL, 2.95 mmol, 1.20 equiv.) to a solution of diisopropylamine (448.2 μ L, 3.20 mmol, 1.30 equiv.) in THF (4.92 mL) cooled to -78°C . After stirring for an additional 15 min at room temperature, the reaction mixture was cooled to -78°C , and a solution of 3-(1,3-dioxolan-2-yl)-2-methylcyclohex-2-enone **340** (448.6 mg, 2.46 mmol, 1.00 equiv.) in THF (4.92 mL) was added dropwise. After stirring at -78°C for 1 h, HMPA (428 μ L, 2.46 mmol, 1.00 equiv.) and ethylcyanoformate (291.4 μ L, 2.95 mmol, 1.20 equiv.) were added successively. The reaction was stirred for an additional 2h30 before being quenched by slow addition of saturated aqueous NH_4Cl at -78°C . Upon warming to room temperature, the crude reaction mixture was extracted with EtOAc. The combined organic phases were dried over MgSO_4 , filtered, and concentrated under reduced pressure. Purification of the residue by flash chromatography on silica gel (heptane/EtOAc 100/0 to 70/30) gave keto-ester **333** (579 mg, 93 %) as a yellow oil.

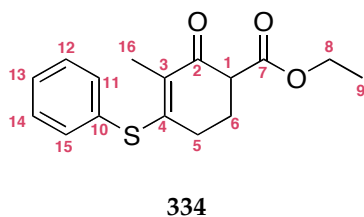
M.S. (ESI, m/z)255.1 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 277.1 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ **H.R.M.S.** (ESI, m/z)Calculated for $\text{C}_{13}\text{H}_{18}\text{O}_5\text{Na}^+$: 277.1052 ; Found: 277.1055**I.R** $\nu(\text{cm}^{-1})$ 2940 (ν_{CHsp^3}) ; 2891 (ν_{CHsp^3}) ; 1733 ($\nu_{\text{C=O}}$ ester) ; 1672 ($\nu_{\text{C=O}}$ ketone) ; 1640 ($\nu_{\text{C=C}}$) ; 1590 (δ_{CHsp^3}) ; 1447 (δ_{CHsp^3}) ; 1154 ($\nu_{\text{C-O}}$) ; 1051 ($\nu_{\text{C-O}}$) ; 1023 ($\nu_{\text{C-O}}$) ; 945 (δ_{CHsp^2})**NMR ^1H** (CDCl_3 , 300MHz) $\delta(\text{ppm})$: 5.59 (s, 1H, H_7) ; 4.14 (qd, 2H, $J=7.2, 4.8\text{Hz}$, H_{12}) ; 4.04-3.84 (m, 4H, H_9, H_8) ; 3.30 (dd, 1H, $J=10.4, 5.0\text{Hz}$, H_1) ; 2.55-2.05 (m, 4H, H_6, H_5) ; 1.82 (t, 3H, $J=1.9\text{Hz}$, H_{10}) ; 1.21 (t, 3H, $J=7.1\text{Hz}$, H_{13})**NMR ^{13}C** (CDCl_3 , 75MHz) $\delta(\text{ppm})$: 194.8 (C_Q, C_2) ; 170.3 ($\text{C}_Q, \text{C}_{11}$) ; 151.1 (C_Q, C_4) ; 134.1 (C_Q, C_3) ; 100.6 (CH, C_7) ; 65.7 ($2\text{CH}_2, \text{C}_9, \text{C}_8$) ; 61.1 ($\text{CH}_2, \text{C}_{12}$) ; 53.4 (CH, C_1) ; 25.1 (CH_2, C_6) ; 22.0 (CH_2, C_5) ; 14.2 ($\text{CH}_3, \text{C}_{13}$) ; 10.4 ($\text{CH}_3, \text{C}_{10}$)

ETHYL 3-METHYL-2-OXO-4-(PHENYLTHIO)CYCLOHEX-3-ENECARBOXYLATE **334**



Procedure :

LDA was generated by dropwise addition of *n*-BuLi solution (1.0 M in hexane, 8.96 mL, 8.96 mmol, 1.20 equiv.) to a solution of diisopropylamine (1.36 mL, 9.71 mmol, 1.30 equiv.) in THF (15.0 mL) cooled to -78°C . After stirring for an additional 15 min at room temperature, the reaction mixture was cooled to -78°C , and a solution of 2-methyl-3-(phenylthio)cyclohex-2-en-1-one **341** (1.63 g, 7.47 mmol, 1.00 equiv.) in THF (15.0 mL) was added dropwise. After stirring at -78°C for 1 h, HMPA (1.30 mL, 7.47 mmol, 1.00 equiv.) and ethylcyanoformate (886 μL , 8.96 mmol, 1.20 equiv.) were added successively. The reaction was stirred for an additional 2h30 at -78°C before being quenched by slow addition of saturated aqueous NH_4Cl . Upon warming to room temperature, the crude reaction mixture was extracted with EtOAc. The combined organic phases were dried over MgSO_4 , filtered, and concentrated under reduced pressure. Purification by flash chromatography on silica gel (heptane/EtOAc 100/0 to 80/20) gave keto-ester **334** (2.1 mg, 99 %) as a white solid.



M.S. (ESI, m/z)

291.1 $[\text{M}+\text{H}]^+$
313.1 $[\text{M}+\text{Na}]^+$

H.R.M.S. (ESI, m/z)

Calculated for $\text{C}_{16}\text{H}_{19}\text{O}_3\text{S}^+$: 291.1055 ; Found: 291.1065

I.R $\nu(\text{cm}^{-1})$

3058 (ν_{CHsp^3}) ; 2976 (ν_{CHsp^3}) ; 2938 (ν_{CHsp^3}) ; 1732 ($\nu_{\text{C=O}}$ ester) ; 1652 ($\nu_{\text{C=O}}$ ketone) ; 1576 ($\nu_{\text{C=C}}$) ; 1475 (δ_{CHsp^3}) ; 1440 (δ_{CHsp^3}) ; 1373 (δ_{CHsp^3}) ; 1306 ($\nu_{\text{C-O}}$ ester) ; 1177 ($\nu_{\text{C-O}}$ ester) ; 1153 ($\nu_{\text{C-O}}$ ester) ; 1023 ($\nu_{\text{C-O}}$ ester) ; 750 (δ_{CHsp^2}) ; 732 (δ_{CHsp^2}) ; 705 ($\delta_{\text{C-S}}$) ; 688 ($\delta_{\text{C-S}}$)

NMR ^1H (CDCl_3 , 300MHz)

$\delta(\text{ppm})$: 7.53-7.48 (m, 2H, H_{15} , H_{11}) ; 7.45-7.36 (m, 3H, H_{14} , H_{12} , H_{10}) ; 4.20 (qd, 2H, $J=7.2$, 5.9Hz, H_8) ; 3.33 (dd, 1H, $J=9.7$, 4.9Hz, H_1) ; 2.42-2.02 (m, 4H, H_6 , H_5) ; 1.98 (t, 3H, $J=1.7\text{Hz}$, H_{16}) ; 1.27 (t, 3H, $J=7.2\text{Hz}$, H_9)

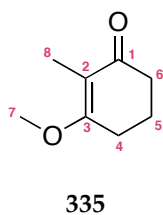
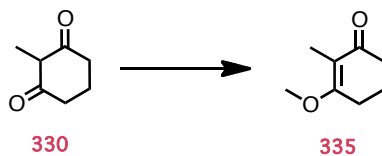
NMR ^{13}C (CDCl_3 , 75MHz)

$\delta(\text{ppm})$: 190.0 (C_Q , C_2) ; 170.4 (C_Q , C_7) ; 158.2 (C_Q , C_4) ; 135.5 (2CH, C_{15} , C_{11}) ; 129.7 (CH, C_{13}) ; 129.6 (C_Q , C_{10}) ; 129.4 (2CH, C_{14} , C_{12}) ; 129.1 (C_Q , C_3) ; 61.2 (CH_2 , C_8) ; 52.5 (CH, C_1) ; 28.4 (CH_2 , C_6) ; 25.5 (CH_2 , C_5) ; 14.2 (CH_3 , C_9) ; 12.3 (CH_3 , C_{16})

m.p.

59.2-62.4 $^{\circ}\text{C}$

3-METHOXY-2-METHYLCYCLOHEX-2-ENONE **335**



Procedure :

To a stirred solution of 2-methyl-1,3-cyclohexanedione **330** (5.00 g, 39.7 mmol, 1.00 equiv.) were successively added K_2CO_3 (6.00 g, 43.6 mmol, 1.10 equiv.) and Me_2SO_4 (4.13 mL, 43.6 mmol, 1.10 equiv.) at room temperature. After being stirred overnight at reflux, the mixture was filtered and the filtrate was concentrated *in vacuo* to give crude 3-methoxy-2-methylcyclohex-2-en-1-one **335**. The residue was purified by flash chromatography on silica gel (heptane/EtOAc 6/4) to obtain **335** as a colorless solid (5.49 g, 99 %).

L.C.M.S. (ESI, m/z)

141.1 $[M+H]^+$
163.1 $[M+Na]^+$

H.R.M.S. (ESI, m/z)

Calculated for $C_8H_{13}O_2^+$: 141.0916 ; Found: 141.0911

I.R. $\nu(\text{cm}^{-1})$

1707 ($\nu_{C=O}$ ketone) ; 1600 ($\nu_{C=C}$) ; 1424 ($\delta_{CH_{sp3}}$) ; 1379 ($\delta_{CH_{sp3}}$) ; 1135 (ν_{C-O} ether) ; 868 ($\delta_{CH_{sp2}}$)

NMR 1H ($CDCl_3$, 300MHz)

$\delta(\text{ppm})$: 3.82 (s, 3H, H_7) ; 2.56 (td, 2H, $J=6.2, 1.7\text{Hz}$, H_4) ; 2.34 (dd, 2H, $J=7.5, 6.1\text{Hz}$, H_6) ; 1.99 (quint, $J=6.51\text{Hz}$, H_5) ; 1.69 (t, $J=1.7\text{Hz}$, H_8)

NMR ^{13}C ($CDCl_3$, 75MHz)

$\delta(\text{ppm})$: 198.8 (C_Q , C_1) ; 171.7 (C_Q , C_3) ; 114.9 (C_Q , C_2) ; 55.1 (CH_3 , C_7) ; 36.2 (CH_2 , C_6) ; 24.8 (CH_2 , C_4) ; 20.9 (CH_2 , C_5) ; 7.3 (CH_3 , C_8)

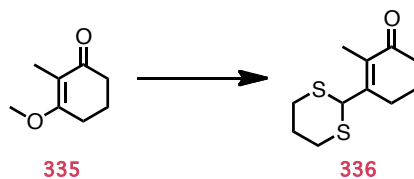
m.p.

47-49°C

Reference

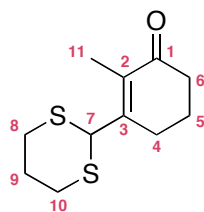
Katoh, N.; Nakahata, T.; Kuwahara, S. *Tetrahedron* **2008**, *64*, 9073-9077.

3-(1,3-DITHIAN-2-YL)-2-METHYLCYCLOHEX-2-ENONE **336**



Procedure :

To a solution of 1,3-dithiane (2.10 g, 17.4 mmol, 2.00 equiv.) maintained to 0°C in THF (20.0 mL) was added butyllithium (1.40M in THF, 12.4 mL, 17.4 mmol, 2.00 equiv.) *via* cannula. The reaction was stirred for 1h at 0°C then a solution of 3-methoxy-2-methylcyclohex-2-enone **335** (1.22 g, 8.70 mmol, 1.00 equiv.) in THF (9.00 mL). After stirring at room temperature overnight, the mixture was quenched with a saturated solution of NH₄Cl, extracted with ethyl acetate. The combined organic extracts were washed with brine and water, dried over MgSO₄, filtered and concentrated *in vacuo*. The resulting oil was purified by flash chromatography on silica gel (heptane/EtOAc 100/0 to 80/20) to give the desired compound **336** as a yellow oil (1.37 g, 69 %).



M.S. (ESI, m/z)

229.1 [M+H]⁺
 251.1 [M+Na]⁺
 283.1 [M+Na+MeOH]⁺

H.R.M.S. (ESI, m/z)

Calculated for C₁₁H₁₇OS₂⁺: 229.0721 ; Found: 229.0728

I.R. ν(cm⁻¹)

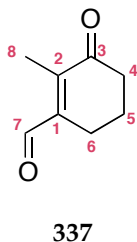
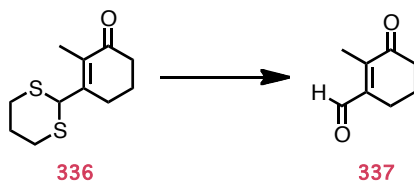
2933 (ν_{CHsp3}) ; 2893 (ν_{CHsp3}) ; 1661 (ν_{C=O} ketone) ; 1620 (ν_{C=C}) ; 1420 (δ_{CH2S}) ; 1350 (δ_{CH2S}) ; 1274 (δ_{CH2S}) ; 874 (δ_{CHsp2}) ; 758 (δ_{CHsp2})

NMR ¹H (CDCl₃, 300MHz)

δ(ppm): 5.15 (s, 1H, H₇) ; 3.05-2.78 (m, 4H, H₈, H₁₀) ; 2.48 (tdd, 2H, J=6.0, 3.9, 1.9Hz, H₆) ; 2.33 (t, 2H, J=6.6Hz, H₄) ; 2.08 (quintdd, 1H, J=14.1, 4.5, 2.3Hz, H₅) ; 1.94-1.72 (m, 6H, H₅, H₉, H₁₁)

NMR ¹³C (CDCl₃, 75MHz)

δ(ppm): 198.9 (C_Q, C₁) ; 152.3 (C_Q, C₃) ; 132.5 (C_Q, C₂) ; 51.4 (CH, C₇) ; 37.6 (CH₂, C₆) ; 31.0 (2CH₂, C₈, C₁₀) ; 27.3 (CH₂, C₄) ; 25.2 (CH₂, C₉) ; 22.4 (CH₂, C₅) ; 10.7 (CH₃, C₁₁)

2-METHYL-3-oxocyclohex-1-enecarbaldehyde 337**Procedure :**

To a solution of 3-(1,3-dithian-2-yl)-2-methylcyclohex-2-enone **336** (780 mg, 3.42 mmol, 1.00 equiv.) in acetonitrile (49.0 mL) and water (13.0 mL) was added sodium hydrogenocarbonate (2.87 g, 34.2 mmol, 10.0 equiv.) and iodomethane (2.10 mL, 34.2 mmol, 10.0 equiv.). The reaction was stirred for 36 h, quenched with a saturated solution of NaHCO₃, extracted with ethyl acetate, washed with brine and dried over MgSO₄. After filtration and evaporation of the solvent, the crude was purified by flash chromatography on silica gel (heptane/EtOAc 100/0 to 90/10) to obtained the aldehyde **337** (408 mg, 87 %) as a yellow oil.

M.S. (ESI, m/z)

137.1 [M-H]⁻

H.R.M.S. (ESI, m/z)

Calculated for C₈H₉O₂: 137.0603 ; Found: 137.0596

I.R. ν(cm⁻¹)

2950 (ν_{CHsp3}) ; 2881 (ν_{CHsp3}) ; 1713 (ν_{C=O} aldehyde) ; 1669 (ν_{C=O} ketone) ; 819 (δ_{CHsp2})

NMR ¹H (CDCl₃, 300MHz)

δ(ppm): 10.43 (s, 1H, H₇) ; 2.59-2.45 (m, 4H, H₆, H₄) ; 2.20 (t, 3H, J=2.1Hz, H₈) ; 2.02 (quint, 2H, J=6.2Hz, H₅)

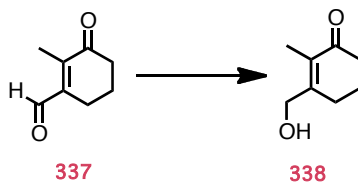
NMR ¹³C (CDCl₃, 75MHz)

δ(ppm): 201.3 (C_Q, C₃) ; 193.5 (CH, C₇) ; 146.3 (C_Q, C₁) ; 143.8 (C_Q, C₂) ; 38.3 (CH₂, C₄) ; 22.7 (CH₂, C₆) ; 21.5 (CH₂, C₅) ; 9.4 (CH₃, C₈)

Reference

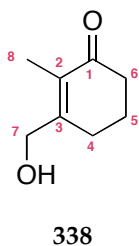
Otera, J.; Niibo, Y.; Nozaki, H. *The Journal of Organic Chemistry* **1989**, *54*, 5003-5007 (different procedure).

3-(HYDROXYMETHYL)-2-METHYLCYCLOHEX-2-ENONE **338**



Procedure :

To a solution of 2-methyl-3-oxocyclohex-1-enecarbaldehyde **337** (316 mg, 2.29 mmol, 1.00 equiv.) in ethyl acetate (4.60 mL) was added sodium triacetoxyborohydride (534 mg, 2.52 mmol, 1.10 equiv.). The suspension was stirred at room temperature for 24 h, then diluted with ethyl acetate and quenched with a saturated solution of NH_4Cl . The organic phase was separated and the aqueous phase was extracted with ethyl acetate. The combined organic extracts were washed with brine and water, dried over MgSO_4 , filtered and concentrated *in vacuo*. The crude was purified by flash chromatography (Heptane/ EtOAc 100/0 to 60/40) to obtained the alcohol **338** (257 mg, 80 %) as a yellow oil.



M.S. (ESI, m/z)

139.1 $[\text{M}-\text{H}]^-$

H.R.M.S. (ESI, m/z)

Calculated for $\text{C}_8\text{H}_{11}\text{O}_2$: 139.0759 ; Found: 139.0757

IR $\nu(\text{cm}^{-1})$

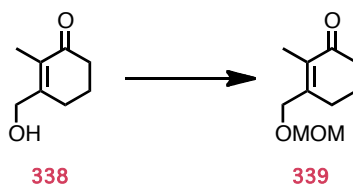
3404 (ν_{OH}) ; 2943 (ν_{CHsp^3}) ; 2869 (ν_{CHsp^3}) ; 1645 ($\nu_{\text{C=O}}$ ketone) ; 1429 (δ_{CHsp^3}) ; 1380 (δ_{CHsp^3}) ; 1010 ($\nu_{\text{C-O}}$ alcohol) ; 874 (δ_{CHsp^2})

NMR ^1H (CDCl_3 , 300MHz)

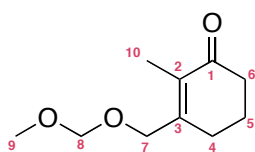
$\delta(\text{ppm})$: 4.39 (s, 2H, H_7) ; 2.80 (brs, 1H, OH) ; 2.51 (td, 2H, $J=6.7, 5.4\text{Hz}$, H_6) ; 2.41 (t, 2H, $J=6.8\text{Hz}$, H_4) ; 1.97 (quint., 2H, $J=6.4\text{Hz}$, H_5) ; 1.76 (t, 3H, $J=2.0\text{Hz}$, H_8)

NMR ^{13}C (CDCl_3 , 75MHz)

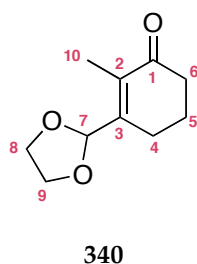
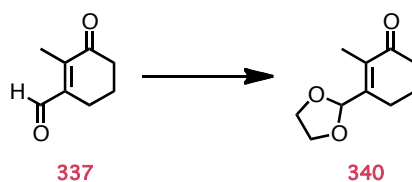
$\delta(\text{ppm})$: 200.1 (C_Q , C_1) ; 156.7 (C_Q , C_3) ; 130.6 (C_Q , C_2) ; 62.8 (CH_2 , C_7) ; 37.7 (CH_2 , C_6) ; 27.2 (CH_2 , C_4) ; 22.3 (CH_2 , C_5) ; 10.1 (CH_3 , C_8)

3-((METHOXYMETHOXY)METHYL)-2-METHYLCYCLOHEX-2-ENONE **339****Procedure :**

To 3-(hydroxymethyl)-2-methylcyclohex-2-enone **338** (318.0 mg, 2.27 mmol, 1.00 equiv) in dichloromethane (22.7 mL) was added dimethoxymethane (22.7 mL), *p*-toluenesulfonic acid (43.2 mg, 0.227 mmol, 0.1 equiv.) and lithium bromide (39.4 mg, 0.454 mmol, 0.2 equiv.). A soxhlet apparatus containing 4Å molecular sieves was fitted and the mixture was heated under reflux for 1 day. After cooling to room temperature, the mixture was quenched with water and the aqueous phase was extracted with dichloromethane. The combined organic extracts were washed with brine and water, dried over MgSO₄, filtered and concentrated *in vacuo*. The crude was purified by flash chromatography (Heptane/EtOAc 100/0 to 60/40) and the protected alcohol **339** was obtained as a yellow oil (295.2 mg, 71%).

**M.S.** (ESI, *m/z*)185.1 [M+H]⁺**H.R.M.S.** (ESI, *m/z*)Calculated for C₁₀H₁₇O₃⁺: 185.1178 ; Found: 185.1170**IR** ν (cm⁻¹)2927 (ν_{CHsp^3}) ; 1711 ($\nu_{\text{C=O}}$) ; 1675 ($\nu_{\text{C=C}}$) ; 1030 ($\nu_{\text{C-O}}$) ; 919 (δ_{CHsp^2})**NMR** ¹H (CDCl₃, 300MHz)
 δ (ppm): 4.69 (d, 2H, J=1.8Hz, H₈) ; 4.29 (s, 2H, H₇) ; 3.43 (d, 3H, J=1.9Hz, H₉) ; 2.54-2.41 (m, 4H, H₆, H₄) ; 2.00 (quint., 2H, J=7.0Hz, H₅) ; 1.82 (s, 3H, H₁₀)
NMR ¹³C (CDCl₃, 75MHz)
 δ (ppm): 199.2 (C_Q, C₁) ; 153.1 (C_Q, C₃) ; 132.0 (C_Q, C₂) ; 96.2 (CH₂, C₈) ; 67.3 (CH₂, C₇) ; 55.3 (CH₃, C₉) ; 37.7 (CH₂, C₆) ; 27.9 (CH₂, C₄) ; 22.2 (CH₂, C₅) ; 10.2 (CH₃, C₁₀)

3-(1,3-DIOXOLAN-2-YL)-2-METHYLCYCLOHEX-2-ENONE **340**



Procedure :

2-methyl-3-oxocyclohex-1-enecarbaldehyde **337** (500 mg, 3.62 mmol, 1.00 equiv.) was treated with 2-ethyl-2-methyl-1,3-dioxolane (22.5 mL) and a catalytic amount of *p*-toluenesulfonic acid monohydrate (379 mg, 0.720 mmol, 0.20 equiv.) at room temperature for 16h. The resulting mixture was diluted with water and extracted with EtOAc. The extracts were washed with a saturated NaCl solution and dried over MgSO₄. Solvent was removed by evaporation and the crude mixture was purified by flash chromatography on silica gel (Heptane/EtOAc, 100/0 to 60/40) to give **340** (449 mg, 68 %) as a colorless oil.

M.S. (ESI, m/z)

183.1 [M+H]⁺

H.R.M.S. (ESI, m/z)

Calculated for C₁₀H₁₅O₃⁺: 183.1021 ; Found: 183.1013

IR ν(cm⁻¹)

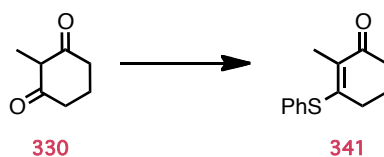
2945 (ν_{CHsp3}) ; 2887 (ν_{CHsp3}) ; 1669 (ν_{C=O} ketone) ; 1456 (δ_{CHsp3}) ; 1432 (δ_{CHsp3}) ; 1181 (ν_{C-O}) ; 1059 (ν_{C-O}) ; 1042 (ν_{C-O}) ; 943 (δ_{CHsp2})

NMR ¹H (CDCl₃, 300MHz)

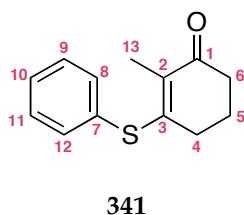
δ(ppm): 5.61 (s, 1H, H₇) ; 3.95 (m, 4H, H₉, H₈) ; 2.34 (m, 4H, H₆, H₄) ; 1.89 (quint., 2H, J=6.3Hz, H₅) ; 1.80 (s, 3H, H₁₀)

NMR ¹³C (CDCl₃, 75MHz)

δ(ppm): 199.9 (C_Q, C₁) ; 151.0 (C_Q, C₃) ; 134.7 (C_Q, C₂) ; 100.9 (CH, C₇) ; 65.7 (2CH₂, C₉, C₈) ; 37.7 (CH₂, C₆) ; 23.5 (CH₂, C₄) ; 22.2 (CH₂, C₅) ; 10.2 (CH₃, C₁₀)

2-METHYL-3-(PHENYLTHIO)CYCLOHEX-2-ENONE 341**Procedure :**

To a stirred solution of 2-methyl-1,3-cyclohexanedione **330** (2.00 g, 15.8 mmol, 1.00 equiv.) in MeCN (17.6 mL) at 0°C was added Et₃N (2.50 mL). The solution was stirred for 5 min at 0°C. Methanesulfonyl chloride (1.30 mL, 16.7 mmol, 1.06 equiv.) was added at 0°C and the reaction was warmed to room temperature over 2h. Stirring was continued for 5h and the reaction was cooled to 0°C. Triethylamine (2.50 mL) was added, followed by the benzenethiol (1.70 mL, 16.3 mmol, 1.03 equiv.). The reaction was allowed to return to room temperature and stirred overnight. A saturated solution of Na₂CO₃ was added, the phases were separated and the aqueous phase was extracted with MTBE. The combined extracts were dried over Na₂SO₄, filtered and the solvent was evaporated *in vacuo*. Purification by flash chromatography on silica gel (heptane/EtOAc 100/0 to 30/70) afforded vinylous thioester **341** as a white crystalline solid (2.72 g, 80 %).

**M.S.** (ESI, m/z)

219.1 [M+H]⁺
 236.1 [M+Na]⁺

H.R.M.S. (ESI, m/z)

Calculated for C₁₃H₁₅OS⁺: 219.0844 ; Found: 219.0838

I.R ν(cm⁻¹)

3046 (ν_{CHsp2}) ; 2942 (ν_{CHsp3}) ; 1636 (ν_{C=O} ketone) ; 1571 (ν_{C=C}) ; 1474 (δ_{CHsp3}) ; 987 (δ_{CHsp2}) ; 754 (δ_{CHsp2}) ; 688 (ν_{C-S})

NMR ¹H (CDCl₃, 300MHz)

δ(ppm): 7.53-7.47 (m, 2H, H₁₂, H₈) ; 7.44-7.35 (m, 3H, H₁₁, H₁₀, H₉) ; 2.38 (dd, 2H, J=7.4, 6.1Hz, H₆) ; 2.18 (td, 2H, J=6.0, 2.0Hz, H₄) ; 1.97 (t, 3H, J=1.8Hz, H₁₃) ; 1.87 (tt, 2H, J=6.5, 6.3Hz, H₅)

NMR ¹³C (CDCl₃, 75MHz)

δ(ppm): 195.3 (C_Q, C₁) ; 157.6 (C_Q, C₃) ; 135.4 (2CH, C₁₂, C₈) ; 130.1 (2C_Q, C₇, C₂) ; 129.4 (CH, C₁₀) ; 129.3 (2CH, C₁₁, C₉) ; 37.1 (CH₂, C₆) ; 30.3 (CH₂, C₄) ; 22.7 (CH₂, C₅) ; 12.2 (CH₃, C₁₃)

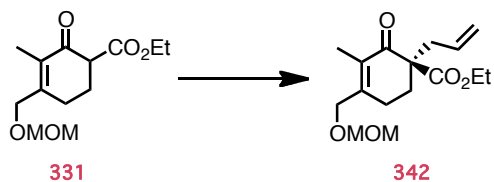
m.p.

85-87°C

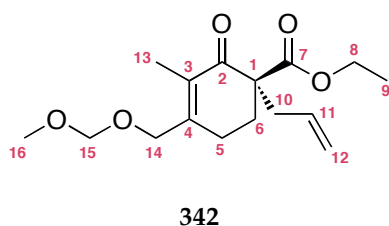
Reference

Levine, S. R.; Krout, M. R.; Stoltz, B. M. *Organic Letters* **2009**, 11, 289-292.

**(R)-ETHYL 1-ALLYL-4-((METHOXYMETHOXY)METHYL)-3-METHYL-2-
OXOCYCLOHEX-3-ENECARBOXYLATE **342****

**Procedure :**

To a solution of allylpalladium chloride dimer (0.4 mg, 1.10 μmol , 0.50 % mol) and (*S,S*)-DACH-phenyl Trost ligand (1.78 mg, 2.60 μmol , 1.20 % mol) in toluene (540 μL) was added allyl acetate (34.8 μL , 323 μmol , 1.50 equiv.). The initial clear yellow solution faded and became cloudy. 1,1,3,3-tetramethylguanidine (32.4 μL , 258 μmol , 1.20 equiv.) was added and the mixture returned to a clear yellow solution. Ethyl 4-((methoxymethoxy)methyl)-3-methyl-2-oxocyclohex-3-enecarboxylate **331** (55.0 mg, 215 μmol , 1.00 equiv.) was added slowly and the reaction was stirred overnight at room temperature under nitrogen atmosphere. The reaction mixture was quenched with saturated aqueous NH_4Cl and the phases were separated. The aqueous phase was extracted with ethyl acetate. The combined organic extracts were washed with brine and water, dried over MgSO_4 , filtered and concentrated *in vacuo*. The resulting oil was purified by flash chromatography (heptane/ AcOEt 80/20) on silica gel to give the allyl ketone **342** as a colorless oil (31.7 mg, 50 %).

**342****M.S.** (ESI, m/z)297.2 $[\text{M}+\text{H}]^+$ **H.R.M.S.** (ESI, m/z)Calculated for $\text{C}_{16}\text{H}_{25}\text{O}_5^+$: 297.1702 ; Found: 297.1698**I.R** $\nu(\text{cm}^{-1})$ 3072 (ν_{CHsp^2}) ; 2933 (ν_{CHsp^3}) ; 1729 ($\nu_{\text{C=O}}$ ester) ; 1673 ($\nu_{\text{C=O}}$ ketone) ; 1639 ($\nu_{\text{C=C}}$) ; 1444 (δ_{CHsp^3}) ; 1218 ($\nu_{\text{C-O}}$) ; 1149 ($\nu_{\text{C-O}}$) ; 1099 ($\nu_{\text{C-O}}$) ; 1036 ($\nu_{\text{C-O}}$) ; 919 (δ_{CHsp^2})**NMR ^1H** (CDCl_3 , 300MHz)

$\delta(\text{ppm})$: 5.78 (ddt, 1H, $J=17.0, 10.2, 7.3\text{Hz}$, H_{11}) ; 5.14-5.04 (m, 2H, H_{12}) ; 4.63 (s, 2H, H_{15}) ; 4.27 (d, 1H, $J=13.2\text{Hz}$, H_{14}) ; 4.19 (d, 1H, $J=13.2\text{Hz}$, $\text{H}_{14'}$) ; 4.15 (q, 2H, $J=7.2\text{Hz}$, H_8) ; 3.38 (s, 3H, H_{16}) ; 2.65 (dddd, 1H, $J=13.7, 7.3, 1.1, 1.0\text{Hz}$, H_{10}) ; 2.57-2.46 (m, 3H, $\text{H}_{10'}$, H_5) ; 2.41 (ddd, 1H, $J=13.8, 5.3, 4.1\text{Hz}$, H_6) ; 1.98-1.85 (m, 1H, H_6) ; 1.81 (t, 3H, $J=2.0\text{Hz}$, H_{13}) ; 1.21 (t, 3H, $J=7.1\text{Hz}$, H_9)

NMR ^{13}C (CDCl_3 , 75MHz)

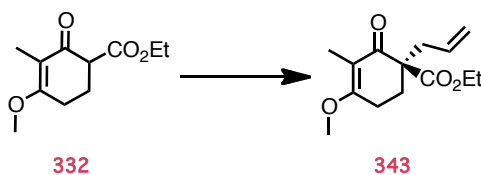
$\delta(\text{ppm})$: 196.0 (C_Q , C_2) ; 171.5 (C_Q , C_7) ; 150.8 (C_Q , C_4) ; 133.6 (CH , C_{11}) ; 131.4 (C_Q , C_3) ; 118.6 (CH_2 , C_{12}) ; 96.3 (CH_2 , C_{15}) ; 67.1 (CH_2 , C_{14}) ; 61.2 (CH_2 , C_8) ; 55.9 (C_Q , C_1) ; 55.5 (CH_3 , C_{16}) ; 38.6 (CH_2 , C_{10}) ; 29.3 (CH_2 , C_6) ; 24.9 (CH_2 , C_5) ; 14.1 (CH_3 , C_9) ; 11.1 (CH_3 , C_{13})

H.P.L.C.Eluent: Heptane/*i*PrOH (90/10), column: IC 5 μm (4,6 x 250 mm), injection volume: 10 μL , flow: 0.8 mL/min(*S*) Enantiomer: Retention time: 12.6 min , Area: 14.0 %(*R*) Enantiomer: Retention time: 13.3 min , Area: 86.0 %

ee = 72%

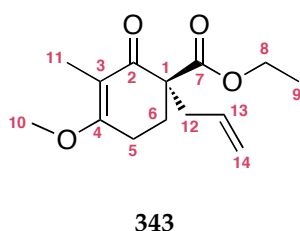
 $[\alpha]_\text{D}^{25}$ + 28.8 ($c = 1.110$, CHCl_3)

**(R)-ETHYL 1-ALLYL-4-METHOXY-3-METHYL-2-OXOCYCLOHEX-3-
ENECARBOXYLATE **343****



Procedure :

To a solution of allylpalladium chloride dimer (0.9 mg, 2.36 μmol , 0.50 % mol) and (*S,S*)-DACH-phenyl Trost ligand (4.5 mg, 5.65 μmol , 1.20 % mol) in toluene (790 μL) was added allyl acetate (76.2 μL , 707 μmol , 1.50 equiv.). The initial clear yellow solution faded and became cloudy. 1,1,3,3-tetramethylguanidine (70.9 μL , 565 μmol , 1.20 equiv.) was added and the mixture returned to a clear yellow solution. Ethyl 4-methoxy-3-methyl-2-oxocyclohex-3-enecarboxylate **332** (100.0 mg, 471 μmol , 1.00 equiv.) was added slowly and the reaction was stirred overnight at room temperature under nitrogen atmosphere. The reaction mixture was quenched with saturated aqueous NH_4Cl and the phases were separated. The aqueous phase was extracted with ethyl acetate. The combined organic extracts were washed with brine and water, dried over MgSO_4 , filtered and concentrated *in vacuo*. The resulting oil was purified by flash chromatography (heptane/ AcOEt 60/40) on silica gel to give the allyl ketone **343** as a yellow oil (8.0 mg, 7 %).



343

M.S. (ESI, m/z)

253.1 $[\text{M}+\text{H}]^+$

H.R.M.S. (ESI, m/z)

Calculated for $\text{C}_{14}\text{H}_{21}\text{O}_4^+$: 253.1440 ; Found: 253.1439

IR $\nu(\text{cm}^{-1})$

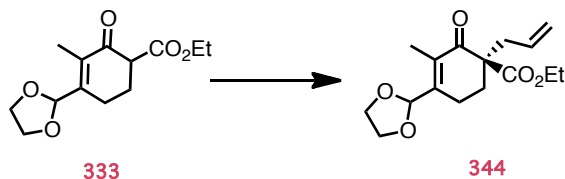
3072 (ν_{CHsp^3}) ; 2885 (ν_{CHsp^3}) ; 1724 ($\nu_{\text{C=O}}$ ester) ; 1651 ($\nu_{\text{C=C}}$) ; 1612 ($\nu_{\text{C=O}}$ ketone) ; 1446 (δ_{CHsp^3}) ; 1379 (δ_{CHsp^3}) ; 1232 ($\nu_{\text{C-O}}$ ester) ; 1201 ($\nu_{\text{C-O}}$ ester) ; 1156 ($\nu_{\text{C-O}}$ ester) ; 1094 ($\nu_{\text{C-O}}$ ether) ; 998 (δ_{CHsp^2}) ; 918 (δ_{CHsp^2}) ; 872 (δ_{CHsp^2})

NMR ^1H (CDCl_3 , 300MHz)

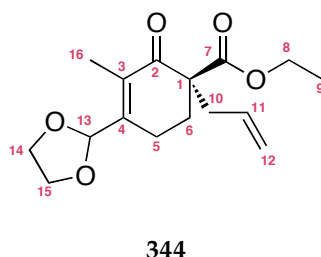
$\delta(\text{ppm})$: 5.68 (ddt, 1H, $J=16.9, 10.3, 7.3\text{Hz}$, H_{13}) ; 5.07-4.97 (m, 2H, H_{14}) ; 4.08 (dd, 2H, $J=7.2, 4.4\text{Hz}$, H_8) ; 3.74 (s, 3H, H_{10}) ; 2.76-2.60 (m, 2H, $\text{H}_{12}, \text{H}_5$) ; 2.54-2.32 (m, 3H, $\text{H}_{12}, \text{H}_6, \text{H}_5$) ; 1.81 (ddd, 1H, $J=13.6, 9.3, 5.6\text{Hz}$, H_6) ; 1.64 (t, 3H, $J=1.7\text{Hz}$, H_{11}) ; 1.15 (t, 3H, $J=7.1\text{Hz}$, H_9)

NMR ^{13}C (CDCl_3 , 75MHz)

$\delta(\text{ppm})$: 194.4 (C_Q, C_2) ; 171.4 (C_Q, C_4) ; 170.5 (C_Q, C_7) ; 133.8 (CH, C_{13}) ; 118.5 ($\text{CH}_2, \text{C}_{14}$) ; 114.0 (C_Q, C_3) ; 61.2 (CH_2, C_8) ; 55.0 ($\text{CH}_3, \text{C}_{10}$) ; 54.6 (C_Q, C_1) ; 38.9 ($\text{CH}_2, \text{C}_{12}$) ; 27.6 (CH_2, C_6) ; 22.3 (CH_2, C_5) ; 14.2 (CH_3, C_9) ; 8.0 ($\text{CH}_3, \text{C}_{11}$)

(R)-ETHYL 1-ALLYL-4-(1,3-DIOXOLAN-2-YL)-3-METHYL-2-OXOCYCLOHEX-3-ENECARBOXYLATE **344****Procedure :**

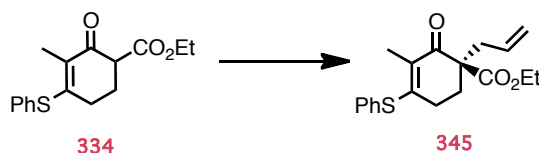
To a solution of allylpalladium chloride dimer (0.5 mg, 1.40 μmol , 0.50 % mol) and (*S,S*)-DACH-phenyl Trost ligand (2.3 mg, 3.30 μmol , 1.20 % mol) in toluene (460 μL) was added allyl acetate (44.5 μL , 413 μmol , 1.50 equiv.). The initial clear yellow solution faded and became cloudy. 1,1,3,3-tetramethylguanidine (41.4 μL , 330 μmol , 1.20 equiv.) was added and the mixture returned to a clear yellow solution. Ethyl 4-(1,3-dioxolan-2-yl)-3-methyl-2-oxocyclohex-3-enecarboxylate **333** (70.0 mg, 275 μmol , 1.00 equiv.) was added slowly at -20°C and the reaction was stirred overnight at -20°C under argon atmosphere. The reaction mixture was quenched with saturated aqueous NH_4Cl and the phases were separated. The aqueous phase was extracted with ethyl acetate. The combined organic extracts were washed with brine and water, dried over MgSO_4 , filtered and concentrated *in vacuo*. The resulting oil was purified by flash chromatography (heptane/ AcOEt 90/10) on silica gel to give the allyl ketone **344** as a yellow oil (6.7 mg, 10 %).

**344****M.S.** (ESI, m/z)295.2 $[M+H]^+$ **H.R.M.S.** (ESI, m/z)Calculated for $\text{C}_{16}\text{H}_{23}\text{O}_5^+$: 295.1545 ; Found: 295.1542**IR** $\nu(\text{cm}^{-1})$ 3067 ($\nu_{\text{CHsp}2}$) ; 2976 ($\nu_{\text{CHsp}3}$) ; 2933 ($\nu_{\text{CHsp}3}$) ; 2885 ($\nu_{\text{CHsp}3}$) ; 1728 ($\nu_{\text{C=O}}$ ester) ; 1677 ($\nu_{\text{C=O}}$ ketone) ; 1640 ($\nu_{\text{C=C}}$) ; 1445 ($\delta_{\text{CHsp}3}$) ; 1176 ($\nu_{\text{C-O}}$) ; 1050 ($\nu_{\text{C-O}}$) ; 1022 ($\nu_{\text{C-O}}$) ; 920 ($\delta_{\text{CHsp}2}$)**NMR ^1H** (CDCl_3 , 300MHz) $\delta(\text{ppm})$: 5.71 (ddt, 1H, $J=17.0, 9.9, 7.3, 7.3\text{Hz}$, H_{11}) ; 5.57 (s, 1H, H_{13}) ; 5.07-4.96 (m, 2H, H_{12}) ; 4.08 (qt, 2H, $J=10.9, 3.7\text{Hz}$, H_8) ; 4.01-3.84 (m, 4H, $\text{H}_{15}, \text{H}_{14}$) ; 2.55 (ddt, 1H, $J=13.8, 7.0, 1.5\text{Hz}$, H_{10}) ; 2.45 (ddt, 1H, $J=14.1, 7.4, 0.9\text{Hz}$, $\text{H}_{10'}$) ; 2.39-2.28 (m, 3H, H_6, H_5) ; 1.92-1.78 (m, 1H, H_6) ; 1.82 (t, 3H, $J=1.9\text{Hz}$, H_{16}) ; 1.14 (t, 3H, $J=7.1\text{Hz}$, H_9)**NMR ^{13}C** (CDCl_3 , 75MHz) $\delta(\text{ppm})$: 196.6 (C_Q , C_2) ; 171.3 (C_Q , C_7) ; 149.6 (C_Q , C_4) ; 134.0 (C_Q , C_3) ; 133.5 (CH , C_{11}) ; 118.6 (CH_2 , C_{12}) ; 100.7 (CH , C_{13}) ; 65.7 (2CH_2 , $\text{C}_{15}, \text{C}_{14}$) ; 61.2 (CH_2 , C_8) ; 56.1 (C_Q , C_1) ; 38.5 (CH_2 , C_{10}) ; 29.3 (CH_2 , C_6) ; 20.6 (CH_2 , C_5) ; 14.1 (CH_3 , C_9) ; 10.8 (CH_3 , C_{16}) ;**H.P.L.C.**Eluent: Heptane/*i*PrOH (90/10), column: IC 5 μm (4,6 x 250 mm), injection volume: 10 μL , flow: 1.0 mL/min*(S)* Enantiomer: Retention time: 9.8 min , Area: 36.5 %*(R)* Enantiomer : Retention time: 10.5 min , Area: 63.5 %

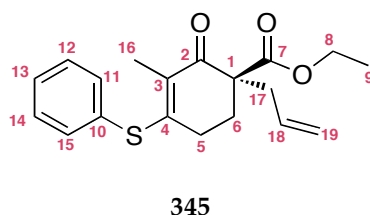
ee = 27%

 $[\alpha]_\text{D}^{25} + 52.3$ ($c = 0.860$, CHCl_3)

(R)-ETHYL 1-ALLYL-3-METHYL-2-OXO-4-(PHENYLTHIO)CYCLOHEX-3-ENECARBOXYLATE **345**

**Procedure :**

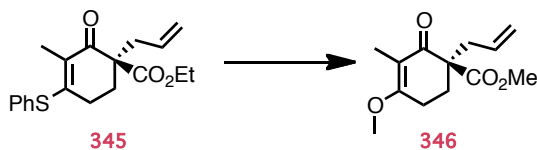
To a solution of allylpalladium chloride dimer (3.2 mg, 9.00 μ mol, 0.50 % mol) and (*S,S*)-DACH-phenyl Trost ligand (14.3 mg, 20.0 μ mol, 1.20 % mol) in toluene (2.90 mL) was added allyl acetate (278 μ L, 2.58 mmol, 1.50 equiv.). The initial clear yellow solution faded and became cloudy. 1,1,3,3-tetramethylguanidine (259 μ L, 2.06 mmol, 1.20 equiv.) was added and the mixture returned to a clear yellow solution. Ethyl 3-methyl-2-oxo-4-(phenylthio)cyclohex-3-enecarboxylate **334** (500.0 mg, 1.72 mmol, 1.00 equiv.) was added slowly and the reaction was stirred overnight at room temperature under nitrogen atmosphere. The reaction mixture was quenched with saturated aqueous NH_4Cl and the phases were separated. The aqueous phase was extracted with ethyl acetate. The combined organic extracts were washed with brine and water, dried over MgSO_4 , filtered and concentrated *in vacuo*. The resulting oil was purified by flash chromatography (heptane/AcOEt 80/20) on silica gel to give the allyl ketone **345** as a yellow oil (429 mg, 76 %).

**345****M.S.** (ESI, m/z)331.1 $[\text{M}+\text{H}]^+$ **H.R.M.S.** (ESI, m/z)Calculated for $\text{C}_{19}\text{H}_{23}\text{O}_3\text{S}^+$: 331.1368 ; Found: 331.1365**I.R** $\nu(\text{cm}^{-1})$ 3076 (ν_{CHsp^3}) ; 2979 (ν_{CHsp^3}) ; 2923 (ν_{CHsp^3}) ; 1726 ($\nu_{\text{C=O}}$ ester) ; 1656 ($\nu_{\text{C=O}}$ ketone) ; 1580 ($\nu_{\text{C=C}}$) ; 1475 (δ_{CHsp^3}) ; 1440 (δ_{CHsp^3}) ; 1218 ($\nu_{\text{C-O}}$ ester) ; 1021 ($\nu_{\text{C-O}}$ ester) ; 918 (δ_{CHsp^2}) ; 748 (δ_{CHsp^2}) ; 705 ($\delta_{\text{C-S}}$) ; 692 ($\delta_{\text{C-S}}$)**NMR ^1H** (CDCl_3 , 300MHz) $\delta(\text{ppm})$: 7.52-7.44 (m, 2H, H_{15} , H_{11}) ; 7.43-7.34 (m, 3H, H_{14} , H_{13} , H_{12}) ; 5.72 (dddd, 1H, $J=17.2, 10.2, 7.0, 6.9\text{Hz}$, H_{18}) ; 5.11-5.01 (m, 2H, H_{19}) ; 4.16 (q, 2H, $J=7.1\text{Hz}$, H_8) ; 2.65 (tdd, 1H, $J=13.9, 7.2, 1.1\text{Hz}$, H_{17}) ; 2.51 (tdd, 1H, $J=13.9, 7.4, 1.0\text{Hz}$, H_{17}) ; 2.39-2.22 (m, 2H, H_6 , H_5) ; 2.16-2.03 (m, 1H, H_5) ; 1.99 (t, 3H, $J=1.8\text{Hz}$, H_{16}) ; 1.84 (ddd, 1H, $J=14.3, 10.1, 5.1\text{Hz}$, H_6) ; 1.23 (t, 3H, $J=7.1\text{Hz}$, H_9)**NMR ^{13}C** (CDCl_3 , 75MHz) $\delta(\text{ppm})$: 191.8 (C_Q , C_2) ; 171.3 (C_Q , C_7) ; 156.7 (C_Q , C_4) ; 135.5 (2CH, C_{15} , C_{11}) ; 133.6 (CH, C_{18}) ; 129.7 (C_Q , C_{10}) ; 129.5 (CH, C_{13}) ; 129.4 (2CH, C_{14} , C_{12}) ; 129.2 (C_Q , C_3) ; 118.6 (CH_2 , C_{19}) ; 61.2 (CH_2 , C_8) ; 55.4 (C_Q , C_1) ; 38.7 (CH_2 , C_{17}) ; 29.6 (CH_2 , C_6) ; 27.3 (CH_2 , C_5) ; 14.2 (CH_3 , C_9) ; 12.8 (CH_3 , C_{16})**H.P.L.C.**Eluent: Heptane/*i*PrOH (96/04), column: IC 5 μm (4,6 x 250 mm), injection volume: 10 μL , flow: 1.0 mL/min*(R)* Enantiomer: Retention time: 15.3 min , Area: 91.7 %*(S)* Enantiomer: Retention time: 16.8 min , Area: 8.3 %

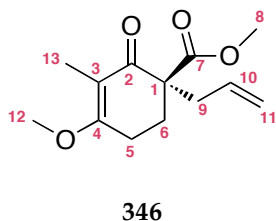
ee = 83%

 $[\alpha]_\text{D}^{25}$ + 57.0 ($c = 0.370$, CHCl_3)

(R)-METHYL 1-ALLYL-4-METHOXY-3-METHYL-2-OXOCYCLOHEX-3-ENECARBOXYLATE **346**

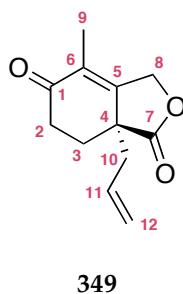
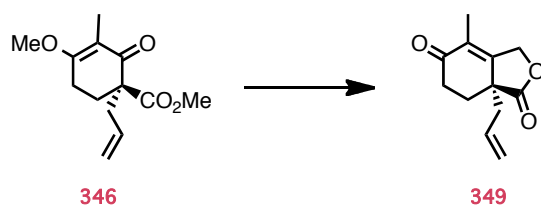
**Procedure :**

A solution of sodium methoxide in methanol (1.80 mL, 0.755 mmol, 5.00 equiv.) (from sodium (285 mg) in freshly distilled methanol (12.5 mL)) was added on thioether **345** (50.0 mg, 0.151 mmol, 1.00 equiv.). The mixture was stirred at room temperature overnight. The mixture was cooled to 0°C, then acetic acid (32.0 μ L, 0.558 mmol, 3.70 equiv.) was added and the mixture was concentrated *in vacuo*. The crude residue was diluted with water and extracted with MTBE. The combined ethereal extracts were washed with brine, dried with MgSO_4 , filtered and evaporated under reduced pressure to give a yellow oil which was purified by flash chromatography on silica gel. Elution with heptane/EtOAc (100/0 to 80/20) gave enone **346** as a yellow oil (34.7 mg, 96 %).

**346****M.S.** (ESI, m/z)239.1 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 261.1 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ **H.R.M.S.** (ESI, m/z)Calculated for $\text{C}_{13}\text{H}_{18}\text{O}_4\text{Na}^+$: 261.1103 ; Found: 261.1104**I.R.** (cm^{-1})2951 (ν_{CHsp^3}) ; 2856 (ν_{CHsp^3}) ; 1727 ($\nu_{\text{C=O}}$ ester) ; 1651 ($\nu_{\text{C=C}}$) ; 1609 ($\nu_{\text{C=O}}$ ketone) ; 1444 (δ_{CHsp^3}) ; 1379 ($\nu_{\text{C-O}}$ ester) ; 1231 ($\nu_{\text{C-O}}$ ester) ; 1108 ($\nu_{\text{C-O}}$ ether) ; 1094 ($\nu_{\text{C-O}}$ ether) ; 998 (δ_{CHsp^2}) ; 919 (δ_{CHsp^2})**NMR ^1H** (CDCl_3 , 300MHz) δ (ppm): 5.73 (ddt, 1H, $J=16.5, 10.6, 7.4\text{Hz}$, H_{10}) ; 5.14-5.03 (m, 2H, H_{11}) ; 3.81 (s, 3H, H_{12}) ; 3.68 (s, 3H, H_8) ; 2.83-2.66 (m, 2H, H_9 , H_5) ; 2.62-2.38 (m, 3H, H_9 , H_6 , H_5) ; 1.89 (ddd, 1H, $J=13.7, 9.4, 5.5\text{Hz}$, H_6) ; 1.71 (s, 3H, H_{13})**NMR ^{13}C** (CDCl_3 , 75MHz) δ (ppm): 194.2 (C_Q , C_2) ; 171.9 (C_Q , C_7) ; 170.8 (C_Q , C_4) ; 133.7 (CH , C_{10}) ; 118.6 (CH_2 , C_{11}) ; 114.0 (C_Q , C_3) ; 55.1 (CH_3 , C_{12}) ; 54.8 (C_Q , C_1) ; 52.4 (CH_3 , C_8) ; 39.1 (CH_2 , C_9) ; 27.6 (CH_2 , C_6) ; 22.6 (CH_2 , C_5) ; 8.0 (CH_3 , C_{13})**H.P.L.C.**Eluent: Heptane/*i*PrOH (90/10), column: IC 5 μm (4,6 x 250 mm), injection volume: 10 μL , flow: 1.0 mL/min*(S)* Enantiomer: Retention time: 21.1 min , Area: 7.8 %*(R)* Enantiomer: Retention time: 22.4 min , Area: 92.2 %

ee = 83%

 $[\alpha]_{\text{D}}^{25}$ + 67.2 ($c = 0.228$, CHCl_3)

(R)-7A-ALLYL-4-METHYL-7,7A-DIHYDROISOBENZOFURAN-1,5(3H,6H)-DIONE 349**Procedure :**

To a solution of *n*-BuLi (102 μ L, 0.143 mmol, 1.70 equiv.) in anhydrous THF (500 μ L) was added Me₃Si (29.2 mg, 0.143 mmol, 1.70 equiv.) at -78°C. After 25 min at room temperature, the mixture was cooled at -78°C and ketone **346** was added. The mixture was stirred at -78°C for 1h and at room temperature for 1h30. Then reaction mixture was quenched with saturated aqueous NaHCO₃ and the phases were separated. The aqueous phase was extracted with ethyl acetate. The combined organic extracts were washed with brine and water, dried over MgSO₄, filtered and concentrated *in vacuo*. The resulting oil was purified by flash chromatography (heptane/AcOEt 90/10 to 80/20) on silica gel to give the lactone **349** as a yellow oil (2,5 mg, 14 %).

NMR ¹H (CDCl₃, 300MHz)

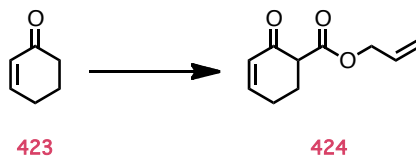
δ (ppm): 5.77 (ddt, 1H, *J*=16.6, 10.6, 7.3, 7.3Hz, H₁₁) ; 5.20-5.09 (m, 2H, H₁₂) ; 4.86 (m, 4H, H₈) ; 2.64-2.38 (m, 4H, H₁₀, H₂) ; 2.26 (ddd, *J*=13.5, 5.5, 1.9Hz ; H₃) ; 1.98 (td, *J*=13.5, 6.8Hz, H₃) ; 1.68 (s, 3H, H₉)

NMR ¹³C (CDCl₃, 75MHz)

δ (ppm): 197.4 (C_Q, C₁) ; 186.5 (C_Q, C₇) ; 154.6 (C_Q, C₅) ; 131.1 (CH, C₁₁) ; 130.0 (C_Q, C₆) ; 120.6 (CH₂, C₁₂) ; 68.0 (CH₂, C₈) ; 57.4 (C_Q, C₄) ; 40.2 (CH₂, C₁₀) ; 32.2 (CH₂, C₂) ; 28.2 (CH₂, C₃) ; 10.9 (CH₃, C₉)

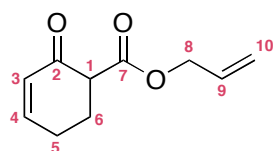
III. Experimental part of chapter 4

ALLYL 2-OXOCYCLOHEX-3-ENECARBOXYLATE **424**



Procedure :

To a solution of diisopropylamine (6.5 mL, 10.4 mmol, 2.00 equiv.) in anhydrous THF (2.5 mL) was added dropwise *n*-BuLi (1.6 M in THF, 1.46 mL, 10.4 mmol, 2.00 equiv.) at -78°C. The reaction was warmed to room temperature, stirred for 15 min and cooled to -78°C. A solution of cyclohexenone **423** (500 mg, 5.20 mmol, 1.00 equiv.) in THF (2.50 mL) was added dropwise *via* cannula at 0°C, and the mixture was stirred for 1h at this temperature. Allyl chloroformate (608 µL, 5.70 mmol, 1.10 equiv.) was added dropwise and the reaction was stirred overnight at room temperature. The mixture was quenched with a saturated solution of NH₄Cl and the organic layer was collected. The aqueous phase was extracted with ethyl acetate. The combined organic extracts were washed with brine and water, dried over MgSO₄, filtered and concentrated *in vacuo*. The resulting oil was purified by flash chromatography (heptane/EtOAc 100/0 to 80/20) on silica gel to give the keto ester **424** as colorless oil (599 mg, 64 %).



424

M.S. (ESI, m/z)

181.1 [M+H]⁺
 203.1 [M+Na]⁺
 235.1 [M+Na+MeOH]⁺

H.R.M.S. (ESI, m/z)

Calculated for C₁₀H₁₂O₃Na⁺: 203.0684 ; Found: 203.0674

LR ν(cm⁻¹)

3036 (ν_{CHsp2}) ; 2929 (ν_{CHsp3}) ; 1735 (ν_{C=O} ester) ; 1676 (ν_{C=O} ketone) ; 1618 (ν_{C=C}) ; 1454 (δ_{CHsp3}) ; 992 (δ_{CHsp2}) ; 934 (δ_{CHsp2})

NMR ¹H (CDCl₃, 300MHz)

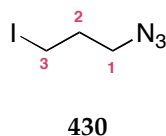
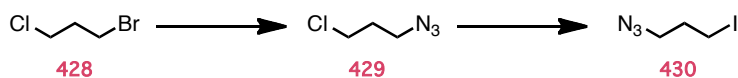
δ(ppm): 6.91 (dt, 1H, J=10.4, 3.8Hz, H₄) ; 5.98 (dt, 1H, J=10.0, 2.0Hz, H₃) ; 5.83 (ddt, 1H, J=17.3, 10.5, 5.7Hz, H₉) ; 5.25 (dq, 1H, J=17.3, 1.6Hz, H₁₀) ; 5.15 (dq, 1H, J=10.4, 1.5Hz, H_{10'}) ; 4.60-4.54 (m, 2H, H₈) ; 3.38-3.32 (m, 1H, H₁) ; 2.45-2.22 (m, 3H, H₅, H₆) ; 2.19-2.08 (m, 1H, H₆)

NMR ¹³C (CDCl₃, 75MHz)

δ(ppm): 193.7 (C_Q, C₂) ; 169.6 (C_Q, C₇) ; 150.6 (CH, C₄) ; 131.8 (CH, C₉) ; 129.1 (CH, C₃) ; 118.5 (CH₂, C₁₂) ; 65.8 (CH₂, C₈) ; 53.5 (CH, C₁) ; 25.7 (CH₂, C₆) ; 24.3 (CH₂, C₅)

Reference

Hanessian, S.; Griffin, A. M.; Rozema, M. J. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **1997**, 7, 1857-1862 (different procedure).

1-AZIDO-3-IODOPROPANE 430**Procedure :**

1,3-chlorobromopropane **428** (20.0 g, 129 mmol, 1.00 equiv.) was dissolved in DMF (300 mL) and NaN_3 (8.80 g, 135 mmol, 1.05 equiv.) was added. The reaction mixture was stirred at room temperature overnight then quenched with water and extracted with diethylether. The combined organic layers were washed with brine and dried over MgSO_4 . The solvent was removed by evaporation in an ice-bath. Then, the crude **429** was dissolved in acetone (200 mL) and NaI was added (38.6 g, 257 mmol, 2.00 equiv.). The reaction mixture was stirred at 60°C for 24h. Water was added, then the aqueous layer was extracted with DCM. The combined organic layers were washed with brine, dried with MgSO_4 , and solvent was removed by evaporation. The product **430** was purified by flash chromatography on silica gel (heptane 100%) and 1-azido-3-iodopropane **430** was obtained (19.5 g, 72 %) as a colorless oil.

M.S.(ESI, m/z)

Impossible to obtain the result by L.C.M.S and G.C.M.S

I.R $\nu(\text{cm}^{-1})$

2928 (ν_{CHsp^3}) ; 2086 (ν_{N_3}) ; 1448 (δ_{CHsp^3}) ; 1346 (δ_{CHsp^3}) ; 1220 (δ_{N_3})

NMR ^1H (CDCl_3 , 300MHz)

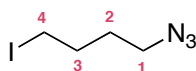
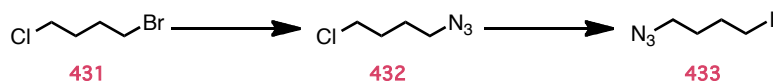
$\delta(\text{ppm})$: 3.43 (t, 2H, $J=6.4\text{Hz}$, H_3) ; 3.25 (t, 2H, $J=6.7\text{Hz}$, H_1) ; 2.04 (quint, 2H, $J=6.5\text{Hz}$, H_2)

NMR ^{13}C (CDCl_3 , 75MHz)

$\delta(\text{ppm})$: 51.6 (CH_2 , C_1) ; 32.5 (CH_2 , C_2) ; 2.5 (CH_2 , C_3)

Reference

Yao, L.; Smith, B. T.; Aubé, J. *The Journal of Organic Chemistry* **2004**, 69, 1720-1722.

1-AZIDO-2-IODOBUTANE 433**433****Procedure :**

1,3-chlorobromobutane **431** (10.0 g, 58.3 mmol, 1.00 equiv.) was dissolved in DMF (146 mL) and NaN_3 (4.00 g, 61.2 mmol, 1.05 equiv.) was added. The reaction mixture was stirred at room temperature overnight then quenched with water and extracted with diethylether. The combined organic layers were washed with brine and dried over MgSO_4 . The solvent was removed by evaporation in an ice-bath. Then, the crude **432** was dissolved in acetone (117 mL) and NaI was added (17.5 g, 117 mmol, 2.00 equiv.). The reaction mixture was stirred at 60°C for 24h. Water was added, then the aqueous layer was extracted with DCM. The combined organic layers were washed with brine, dried with MgSO_4 , and solvent was removed by evaporation. The product **433** was purified by flash chromatography on silica gel (heptane 100%) and 1-azido-3-iodobutane **433** was obtained (10.2 g, 78 %) as colorless oil.

M.S.(ESI, m/z)

Impossible to obtain the result by L.C.M.S and G.C.M.S

I.R $\nu(\text{cm}^{-1})$

2940 (ν_{CHsp^3}) ; 2087 (ν_{N_3}) ; 1452 (δ_{CHsp^3}) ; 1348 (δ_{CHsp^3}) ; 1250 (δ_{N_3})

NMR ^1H (CDCl_3 , 300MHz)

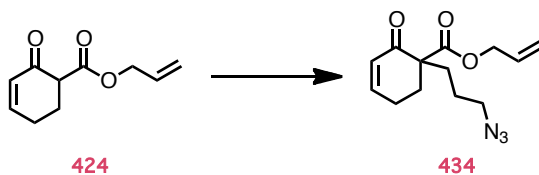
$\delta(\text{ppm})$: 3.33 (t, 2H, $J=6.6\text{Hz}$, H_4) ; 3.22 (t, 2H, $J=6.8\text{Hz}$, H_1) ; 1.93 (quint, 2H, $J=7.0\text{Hz}$, H_2) ; 1.73 (quint, 2H, $J=6.8\text{Hz}$, H_3)

NMR ^{13}C (CDCl_3 , 75MHz)

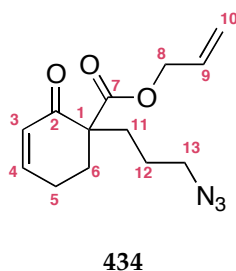
$\delta(\text{ppm})$: 50.6 (CH_2 , C_1) ; 30.6 (CH_2 , C_2) ; 29.9 (CH_2 , C_3) ; 5.8 (CH_2 , C_4)

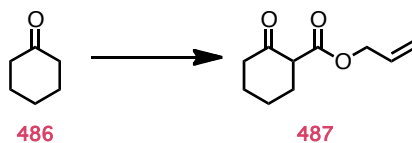
Reference

Lowery, C. A.; Park, J.; Kaufmann, G. F.; Janda, K. D. *Journal of the American Chemical Society* **2008**, *130*, 9200-9201.

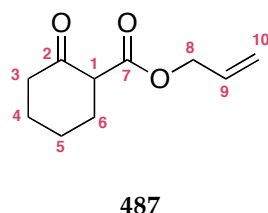
ALLYL 1-(3-AZIDOPROPYL)-2-OXOCYCLOHEX-3-ENECARBOXYLATE **434****Procedure :**

To a suspension of sodium hydride 60% (166 mg, 4.16 mmol, 1.50 equiv.) in anhydrous dimethylformamide (20.0 mL) was added allyl 2-oxocyclohex-3-enecarboxylate **424** (500 mg, 2.77 mmol, 1.00 equiv.) at 0°C. Then 1-azido-2-iodopropane (1.17 g, 5.55 mmol, 2.00 equiv.) was added at 0°C and the reaction mixture was cooled to room temperature and stirred overnight. The crude residue was diluted with a solution of saturated NH₄Cl and extracted with ethyl acetate. The extracts were washed with brine, dried with MgSO₄, filtered and evaporated under reduced pressure. The crude was purified by flash chromatography on silica gel (heptane/EtOAc 100/0 to 95/5) to give compound **434** as a slightly yellow oil (621 mg, 85 %).

**M.S.** (ESI, m/z)286.1 [M+Na]⁺**H.R.M.S.** (ESI, m/z)Calculated for C₁₃H₁₇N₃O₃Na⁺: 286.1168 ; Found: 286.1157**I.R** ν(cm⁻¹)3033 (ν_{CHsp2}) ; 2933 (ν_{CHsp3}) ; 2092 (ν_{N3}) ; 1728 (ν_{C=O} ester) ; 1666 (ν_{C=O} ketone) ; 1646 (ν_{C=C}) ; 1621 (ν_{C=C}) ; 1450 (δ_{CHsp3}) ; 1386 (δ_{CHsp3}) ; 1241 (δ_{N3}) ; 1183 (ν_{C-O} ester) ; 989 (δ_{CHsp2}) ; 932 (δ_{CHsp2})**NMR** ¹H (CDCl₃, 300MHz)δ(ppm): 6.85 (dddd, 1H, J=10.2, 4.7, 3.1, 1.1Hz, H₄) ; 5.98 (ddd, 1H, J=10.2, 1.9, 1.7Hz, H₃) ; 5.80 (ddt, 1H, J=17.2, 10.5, 5.7Hz, H₉) ; 5.22 (ddd, 1H, J=17.1, 2.9, 1.5Hz, H₁₀) ; 5.16 (ddd, 1H, J=10.4, 2.5, 1.2Hz, H_{10'}) ; 4.54 (d, 2H, J=5.6Hz, H₈) ; 3.23 (t, 2H, J=6.7Hz, H₁₃) ; 2.52-2.21 (m, 3H, H₅, H₁₁) ; 1.97-1.68 (m, 3H, H₆, H₁₁) ; 1.68-1.41 (m, 2H, H₁₂)**NMR** ¹³C (CDCl₃, 75MHz)δ(ppm): 195.7 (C_Q, C₂) ; 171.0 (C_Q, C₇) ; 149.3 (CH, C₄) ; 131.5 (CH, C₉) ; 129.1 (CH, C₃) ; 118.7 (CH₂, C₁₀) ; 65.8 (CH₂, C₈) ; 56.6 (C_Q, C₁) ; 51.6 (CH₂, C₁₃) ; 30.9 (CH₂, C₆) ; 30.3 (CH₂, C₁₁) ; 24.2 (CH₂, C₁₂) ; 23.6 (CH₂, C₅)

ALLYL 2-OXOCYCLOHEXANECARBOXYLATE **487****Procedure :**

To a solution of diisopropylamine (14.3 mL, 102 mmol, 2.00 equiv.) in THF (90.0 mL) was added dropwise *n*-BuLi (1.4 M in THF, 73.0 mL, 102 mmol, 2.00 equiv.) at -78°C. The reaction was warmed to room temperature, stirred for 15 min and cooled to -78°C. A solution of cyclohexanone **486** (5.00 g, 50.9 mmol, 1.00 equiv.) in THF (12.0 mL) was added dropwise *via* cannula, and the mixture was stirred for 1h. Allyl chloroformate (8.10 mL, 76.4 mmol, 1.50 equiv.) was added dropwise and the reaction was stirred for 1h at -78°C and then, at room temperature overnight. The mixture was quenched with water and the organic layer was collected. The aqueous phase was extracted with ethyl acetate. The combined organic extracts were washed with brine and water, dried over MgSO₄, filtered and concentrated *in vacuo*. The resulting oil was purified by flash chromatography on silica gel (heptane/EtOAc 100/0 to 80/20) to give the keto ester **487** as a colorless oil (5.15 g, 56 %).

**M.S.** (ESI, m/z)183.1 [M+H]⁺205.1 [M+Na]⁺**H.R.M.S.** (ESI, m/z)Calculated for C₁₀H₁₄O₃Na⁺ : 205.0841 ; Found: 205.0835**IR** ν(cm⁻¹)2930 (ν_{CHsp3}) ; 2858 (ν_{CHsp3}) ; 1743 (ν_{C=O} ester) ; 1657 (ν_{C=O} ketone) ; 1447 (δ_{CHsp3}) ; 1392 (δ_{CHsp3}) ; 1213 (ν_{C-O} ester)**NMR ¹H** (CDCl₃, 300MHz)

δ(ppm) for enol form: 12.14 (s, 0.7H, H₂) ; 5.94 (dddd, 0.7H, J=17.2, 10.4, 9.2, 5.5Hz, H₉) ; 5.33 (dddd, 0.7H, J=17.2, 1.7, 1.7, 1.6Hz, H₁₀) ; 5.24 (dddd, 0.7H, J=10.4, 1.5, 1.5, 1.4Hz, H_{10'}) ; 4.73-4.54 (m, 1.4H, H₈) ; 2.27 (ddd, 2.8H, J=6.5, 4.9, 1.5Hz, H₃, H₆) ; 2.10-1.76 (m, 1H, H₄) ; 1.74-1.55 (m, 3H, H₄, H₅)

δ(ppm) for ketone form: 5.94 (dddd, 0.3H, J=17.2, 10.4, 9.2, 5.5Hz, H₉) ; 5.33 (dddd, 0.3H, J=17.2, 1.7, 1.7, 1.6Hz, H₁₀) ; 5.24 (dddd, 0.3H, J=10.4, 1.5, 1.5, 1.4Hz, H_{10'}) ; 4.73-4.54 (m, 0.6H, H₈) ; 3.41 (ddd, 0.3H, J=9.3, 6.3, 1.2Hz, H₁) ; 2.58-2.46 (m, 0.3H, H₃) ; 2.45-2.34 (m, 0.3H, H₃) ; 2.22-2.11 (m, 0.6H, H₆) ; 2.10-1.76 (m, 0.3H, H₄) ; 1.74-1.55 (m, 0.9H, H₄, H₅)

NMR ¹³C (CDCl₃, 75MHz)

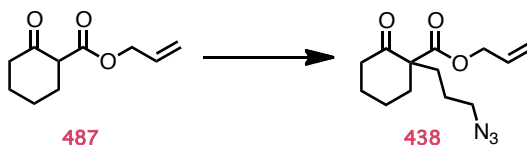
δ(ppm) for enol form: 172.4 (C_Q, C₂) ; 172.2 (C_Q, C₇) ; 132.3 (CH, C₉) ; 117.8 (CH₂, C₁₀) ; 97.6 (C_Q, C₁) ; 64.6 (CH₂, C₈) ; 29.1 (2CH₂, C₃, C₄) ; 22.4 (CH₂, C₅) ; 21.9 (CH₂, C₆)

δ(ppm) for ketone form: 206.0 (C_Q, C₂) ; 169.6 (C_Q, C₇) ; 131.8 (CH, C₉) ; 118.5 (CH₂, C₁₀) ; 65.7 (CH₂, C₈) ; 57.2 (CH, C₁) ; 41.6 (CH₂, C₃) ; 30.0 (CH₂, C₆) ; 27.1 (CH₂, C₄) ; 23.3 (CH₂, C₅)

Reference

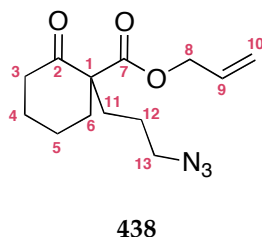
Mohr, J. T.; Behenna, D. C.; Harned, A. M.; Stoltz, B. M. *Angewandte Chemie International Edition* **2005**, *44*, 6924-6927.
(prepared by Dieckmann Cyclization Method, 75% yield)

ALLYL 1-(3-AZIDOPROPYL)-2-OXOCYCLOHEXANECARBOXYLATE **438**



Procedure :

To a suspension of sodium hydride 60% (33.0 mg, 0.820 mmol, 1.50 equiv.) in anhydrous dimethylformamide (4.00 mL) was added allyl 2-oxocyclohexanecarboxylate **487** (100 mg, 0.550 mmol, 1.00 equiv.) at 0°C. Then 1-azido-2-iodopropane (232 mg, 1.10 mmol, 2.00 equiv.) was added at 0°C and the reaction mixture was cooled to room temperature and stirred overnight. The crude residue was diluted with a solution of saturated NH₄Cl and extracted with ethyl acetate. The extracts were washed with brine, dried with MgSO₄, filtered and evaporated under reduced pressure. The crude was purified by flash chromatography on silica gel (heptane/EtOAc 100/0 to 95/5) to give compound **438** as a colorless oil (87.4 mg, 60 %).



M.S. (ESI, m/z)

288.1 [M+Na]⁺

H.R.M.S. (ESI, m/z)

Calculated for C₁₃H₁₉N₃O₃Na⁺ : 288.1324 ; Found: 288.1318

I.R. ν(cm⁻¹)

2940 (ν_{CHsp3}) ; 2095 (ν_{N3}) ; 1708 (ν_{C=O ester}) ; 1450 (δ_{CHsp3}) ; 1182 (ν_{C-O}) ; 1135 (ν_{C-O}) ; 985 (δ_{CHsp2})

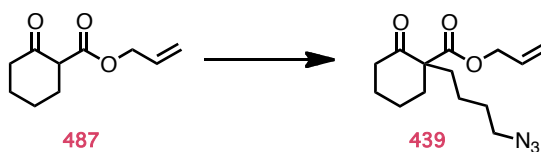
NMR ¹H (CDCl₃, 300MHz)

δ(ppm): 5.90 (dddd, 1H, J=17.2, 10.4, 5.9, 5.9Hz, H₉) ; 5.34 (dddd, 1H, J=17.2, 1.5, 1.5, 1.5Hz, H₁₀) ; 5.28 (dddd, 1H, J=10.4, 1.2, 1.2, 1.2Hz, H_{10'}) ; 4.65 (d, 2H, J=5.9Hz, H₈) ; 3.27 (t, 2H, J=6.3Hz, H₁₃) ; 2.58-2.22 (m, 3H, H_{6'}, H₃) ; 2.15-1.83 (m, 3H, H₁₁, H₄) ; 1.82-1.35 (m, 6H, H₁₂, H_{11'}, H₆, H₅)

NMR ¹³C (CDCl₃, 75MHz)

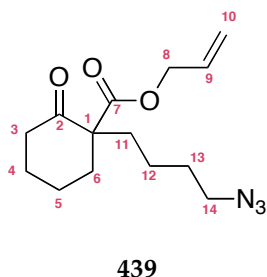
δ(ppm): 207.5 (C_Q, C₂) ; 171.5 (C_Q, C₇) ; 131.3 (CH, C₉) ; 119.4 (CH₂, C₁₀) ; 65.9 (CH₂, C₈) ; 60.5 (C_Q, C₁) ; 51.5 (CH₂, C₁₃) ; 41.0 (CH₂, C₃) ; 36.3 (CH₂, C₆) ; 31.9 (CH₂, C₁₁) ; 27.5 (CH₂, C₄) ; 24.0 (CH₂, C₁₂) ; 22.5 (CH₂, C₅)

ALLYL 1-(4-AZIDOBUTYL)-2-OXOCYCLOHEXANECARBOXYLATE **439**



Procedure :

To a suspension of sodium hydride 60% (33.0 mg, 0.820 mmol, 1.50 equiv.) in anhydrous dimethylformamide (4.00 mL) was added allyl 2-oxocyclohexanecarboxylate **487** (100 mg, 0.550 mmol, 1.00 equiv.) at 0°C. Then 1-azido-2-iodobutane (248 mg, 1.10 mmol, 2.00 equiv.) was added at 0°C and the reaction mixture was cooled to room temperature and stirred overnight. The crude residue was diluted with a solution of saturated NH₄Cl and extracted with ethyl acetate. The extracts were washed with brine, dried with MgSO₄, filtered and evaporated under reduced pressure. The crude was purified by flash chromatography on silica gel (heptane/EtOAc 100/0 to 95/5) to give compound **439** as a slightly yellow oil (92.1 mg, 60 %).



439

M.S. (ESI, m/z)

280.2 [M+H]⁺

H.R.M.S. (ESI, m/z)

Calculated for C₁₄H₂₂N₃O₃⁺: 280.1661 ; Found: 280.1655

LR ν (cm⁻¹)

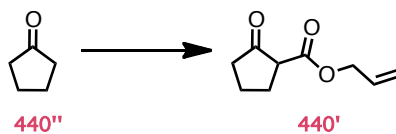
2942 (ν_{CHsp3}) ; 2867 (ν_{CHsp3}) ; 2093 (ν_{N3}) ; 1707 (ν_{C=O} ester) ; 1649 (ν_{C=C}) ; 1204 (ν_{C-O}) ; 1174 (ν_{C-O}) ; 1136 (ν_{C-O}) ; 986 (δ_{CHsp2}) ; 934 (δ_{CHsp2})

NMR ¹H (CDCl₃, 300MHz)

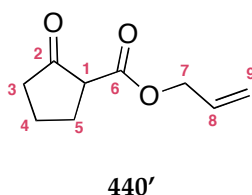
δ(ppm): 5.90 (dddd, 1H, J=17.3, 10.4, 5.9, 5.9Hz, H₉) ; 5.33 (ddd, 1H, J=17.2, 1.6, 1.3Hz, H₁₀) ; 5.27 (ddd, 1H, J=10.4, 2.3, 1.1Hz, H₁₀) ; 4.64 (ddd, 2H, J=5.8, 2.1, 1.1Hz, H₈) ; 3.26 (t, 2H, J=6.9Hz, H₁₄) ; 2.58-2.38 (m, 3H, H₆, H₅) ; 2.80-1.18 (m, 11H, H₁₃, H₁₂, H₁₁, H₆, H₅, H₄)

NMR ¹³C (CDCl₃, 75MHz)

δ(ppm): 207.7 (C_Q, C₂) ; 171.6 (C_Q, C₇) ; 131.5 (CH, C₉) ; 119.3 (CH₂, C₁₀) ; 65.8 (CH₂, C₈) ; 60.8 (C_Q, C₁) ; 51.1 (CH₂, C₁₄) ; 41.1 (CH₂, C₃) ; 36.1 (CH₂, C₆) ; 34.2 (CH₂, C₁₁) ; 29.2 (CH₂, C₁₃) ; 27.6 (CH₂, C₄) ; 22.6 (CH₂, C₅) ; 21.6 (CH₂, C₁₂)

ALLYL 2-OXOCYCLOPENTANECARBOXYLATE **440'****Procedure :**

To a solution of diisopropylamine (1.66 mL, 11.9 mmol, 2.00 equiv.) in THF (10.0 mL) was added dropwise *n*-BuLi (1.36 M in THF, 8.75 mL, 11.9 mmol, 2.00 equiv.) at -78°C. The reaction was warmed to room temperature, stirred for 15 min and cooled to -78°C. A solution of cyclopentanone **440''** (500 mg, 5.94 mmol, 1.00 equiv.) in THF (2.00 mL) was added dropwise *via* cannula, and the mixture was stirred for 1h. Allyl chloroformate (947 μ L, 8.91 mmol, 1.50 equiv.) was added dropwise and the reaction was stirred for 2h30 at -78°C. The mixture was quenched with a saturated solution of NH₄Cl and the organic layer was collected. The aqueous phase was extracted with ethyl acetate. The combined organic extracts were washed with brine and water, dried over MgSO₄, filtered and concentrated *in vacuo*. The resulting oil was purified by flash chromatography on silica gel (heptane/MTBE 100/0 to 90/10) to give the keto ester **440'** as a colorless oil (547 mg, 55 %).

**M.S.** (ESI, *m/z*)

169.1 [M+H]⁺
 191.1 [M+Na]⁺

H.R.M.S. (ESI, *m/z*)

Calculated for C₉H₁₂O₃Na⁺ : 191.0684 ; Found: 191.0689

I.R. ν (cm⁻¹)

2960 (ν_{CHsp^3}) ; 1753 ($\nu_{\text{C=O}}$ ester) ; 1722 ($\nu_{\text{C=O}}$ ketone) ; 1453 (δ_{CHsp^3}) ; 1110 ($\nu_{\text{C-O}}$ ester)

NMR ¹H (CDCl₃, 300MHz)

δ (ppm): 5.92 (ddt, 1H, J=17.2, 10.4, 5.7Hz, H₈) ; 5.34 (dd, 1H, J=17.3, 1.5Hz, H₉) ; 5.25 (dd, 1H, J=10.5, 1.6Hz, H₉) ; 4.65 (ddd, 2H, J=5.6, 1.9, 1.4Hz, H₇) ; 3.19 (t, 1H, J=9.0Hz, H₁) ; 2.37-2.26 (m, 4H, H₃, H₅) ; 2.21-2.07 (m, 1H, H₄) ; 1.97-1.78 (m, 1H, H₄)

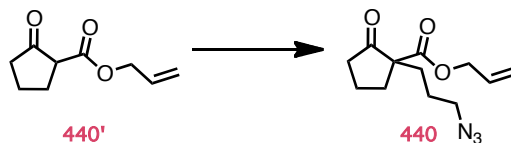
NMR ¹³C (CDCl₃, 75MHz)

δ (ppm): 212.1 (C_Q, C₂) ; 169.0 (C_Q, C₆) ; 131.7 (CH, C₈) ; 118.5 (CH₂, C₉) ; 65.9 (CH₂, C₇) ; 54.7 (CH, C₁) ; 38.1 (CH₂, C₃) ; 27.4 (CH₂, C₅) ; 21.0 (CH₂, C₄)

Reference

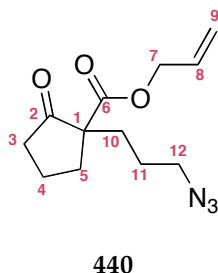
Enders, D.; Knopp, M. *Tetrahedron* **1996**, 52, 5805-5818. (prepared by Dieckmann Cyclization Method, 48% yield)

ALLYL 1-(3-AZIDOPROPYL)-2-OXOCYCLOPENTANECARBOXYLATE **440**



Procedure :

To a suspension of sodium hydride 60% (117 mg, 4.88 mmol, 1.50 equiv.) in anhydrous dimethylformamide (23.2 mL) was added allyl 2-oxocyclopentanecarboxylate **440'** (545 mg, 3.25 mmol, 1.00 equiv.) at 0°C. Then 1-azido-2-iodopropane (1.40 g, 6.50 mmol, 2.00 equiv.) was added at 0°C and the reaction mixture was cooled to room temperature and stirred overnight. The crude residue was diluted with a solution of saturated NH₄Cl and extracted with ethyl acetate. The extracts were washed with brine, dried with MgSO₄, filtered and evaporated under reduced pressure. The crude was purified by flash chromatography on silica gel (heptane/EtOAc 100/0 to 90/10) to give compound **440** as a colorless oil (367.3 mg, 45 %).



440

M.S. (ESI, m/z)

224.1 [M+H-N₂]⁺

274.1 [M+Na]⁺

H.R.M.S. (ESI, m/z)

Calculated for C₁₂H₁₇N₃O₃Na⁺: 274.1168 ; Found: 274.1165

I.R. ν(cm⁻¹)

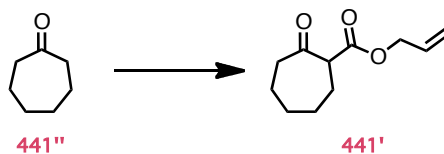
2960 (ν_{CHsp3}) ; 2093 (ν_{N3}) ; 1749 (ν_{C=O} ester) ; 1719 (ν_{C=O} ketone) ; 1452 (δ_{CHsp3}) ; 1354 (δ_{CHsp3}) ; 1225 (ν_{C-O}) ; 1149 (ν_{C-O}) ; 931 (δ_{CHsp2})

NMR ¹H (CDCl₃, 300MHz)

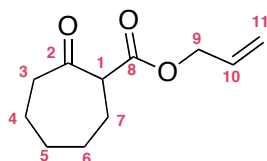
δ(ppm): 5.88 (ddt, 1H, J=17.3, 10.5, 5.7Hz, H₈) ; 5.31 (ddd, 1H, J=17.2, 2.7, 1.4Hz, H₉) ; 5.24 (ddd, 1H, J=10.4, 2.4, 1.2Hz, H₉) ; 4.61 (dt, 2H, J=5.7, 1.6Hz, H₇) ; 3.28 (td, 2H, J=6.0, 1.7Hz, H₁₂) ; 2.61-2.38 (m, 2H, H₅, H₃) ; 2.35-2.21 (m, 1H, H₃) ; 2.13-1.82 (m, 4H, H₁₀, H₅, H₄) ; 1.79-1.44 (m, 3H, H₁₁, H₁₀)

NMR ¹³C (CDCl₃, 75MHz)

δ(ppm): 214.3 (C_Q, C₂) ; 170.6 (C_Q, C₆) ; 131.5 (CH, C₈) ; 118.7 (CH₂, C₉) ; 66.0 (CH₂, C₇) ; 59.9 (C_Q, C₁) ; 51.5 (CH₂, C₁₂) ; 37.9 (CH₂, C₃) ; 33.2 (CH₂, C₅) ; 30.9 (CH₂, C₁₀) ; 24.5 (CH₂, C₁₁) ; 19.6 (CH₂, C₄)

ALLYL 2-OXOCYCLOHEPTANECARBOXYLATE **441'****Procedure :**

To a solution of diisopropylamine (1.25 mL, 8.91 mmol, 2.00 equiv.) in THF (6.9 mL) was added dropwise *n*-BuLi (1.36 M in THF, 6.55 mL, 8.91 mmol, 2.00 equiv.) at -78°C. The reaction was warmed to room temperature, stirred for 15 min and cooled to -78°C. A solution of cycloheptanone **441''** (500 mg, 4.46 mmol, 1.00 equiv.) in THF (2.00 mL) was added dropwise *via* cannula, and the mixture was stirred for 1h. Allyl chloroformate (711 µL, 6.69 mmol, 1.50 equiv.) was added dropwise and the reaction was stirred for 2h30 at -78°C. The mixture was quenched with a saturated solution of NH₄Cl and the organic layer was collected. The aqueous phase was extracted with ethyl acetate. The combined organic extracts were washed with brine and water, dried over MgSO₄, filtered and concentrated *in vacuo*. The resulting oil was purified by flash chromatography on silica gel (heptane/MTBE 100/0 to 90/10) to give the keto ester **441'** as a colorless oil (489 mg, 56 %).

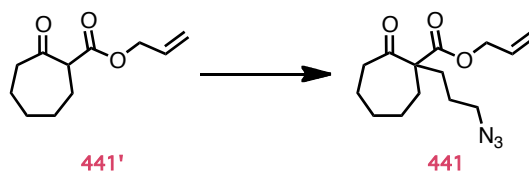
**441'****M.S.** (ESI, m/z)197.1 [M+H]⁺219.1 [M+Na]⁺**H.R.M.S.** (ESI, m/z)Calculated for C₁₁H₁₆O₃Na⁺ : 219.0997 ; Found: 219.0987**IR** ν(cm⁻¹)2930 (ν_{CHsp3}) ; 2854 (ν_{CHsp3}) ; 1740 (ν_{C=O ester}) ; 1704 (ν_{C=O ketone}) ; 1454 (δ_{CHsp3}) ; 1238 (ν_{C-O ester}) ; 1183 (ν_{C-O ester})**NMR ¹H** (CDCl₃, 300MHz)

δ(ppm): 12.7 (s, 0.2H, H_{enol}) ; 5.90 (ddd, 1H, J=17.0, 10.7, 5.2Hz, H₁₀) ; 5.32 (dd, 1H, J=17.2, 1.5Hz, H₁₁) ; 5.24 (dd, 1H, J=10.5, 1.3Hz, H₁₁) ; 4.63 (dd, 2H, J=5.7, 1.3, 1.4Hz, H₉) ; 3.58 (dd, 0.8H, J=10.3, 4.0Hz, H₁) ; 3.69-2.38 (m, 2H, H₃) ; 2.18-2.05 (m, 1H, H₇) ; 2.02-1.78 (m, 3H, H₇, H₄) ; 1.69-1.35 (m, 4H, H₅, H₆)

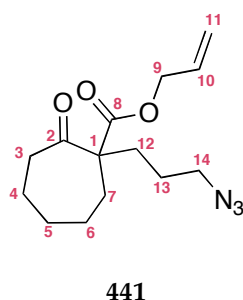
NMR ¹³C (CDCl₃, 75MHz)

δ(ppm) for enol form: 180.0 (C_Q, C₂) ; 172.6 (C_Q, C₈) ; 132.4 (CH, C₁₀) ; 117.7 (CH₂, C₁₁) ; 101.5 (C_Q, C₁) ; 64.8 (CH₂, C₉) ; 41.2 (CH₂, C₃) ; 35.4 (CH₂, C₆) ; 31.2 (CH₂, C₄) ; 27.4 (CH₂, C₇) ; 24.6 (CH₂, C₅)

δ(ppm) for ketone form: 208.8 (C_Q, C₂) ; 170.2 (C_Q, C₈) ; 131.8 (CH, C₁₀) ; 118.5 (CH₂, C₁₁) ; 65.6 (CH₂, C₉) ; 57.2 (CH, C₁) ; 43.1 (CH₂, C₃) ; 29.6 (CH₂, C₇) ; 28.0 (CH₂, C₆) ; 27.6 (CH₂, C₅) ; 24.3 (CH₂, C₄)

ALLYL 1-(3-AZIDOPROPYL)-2-OXOCYCLOHEPTANECARBOXYLATE **441****Procedure :**

To a solution of allyl 2-oxocycloheptanecarboxylate **441'** (1.76 g, 8.98 mmol, 1.00 equiv.) in CH₃CN (18.0 mL) was added cesium carbonate (5.90 g, 18.0 mmol, 2.00 equiv). The resulting suspension was stirred at room temperature for 30 min, and then 1-azido-3-iodopropane (3.80 g, 18.0 mmol, 2.00 equiv) was added. The reaction was stirred at 80°C overnight before cooling. The reaction mixture was filtered through Celite® (EtOAc eluent) and the solvent was evaporated *in vacuo*. Purification by flash chromatography (Heptane/EtOAc 100/0 to 80/20) afforded β -ketoester **441** (1.25 g, 50%) as a colorless oil.

**M.S.**(ESI, m/z)280.2 [M+H]⁺302.2 [M+Na]⁺**H.R.M.S.** (ESI, m/z)Calculated for C₁₄H₂₂N₃O₃⁺: 280.1661 ; Found: 280.1659**I.R** ν (cm⁻¹)

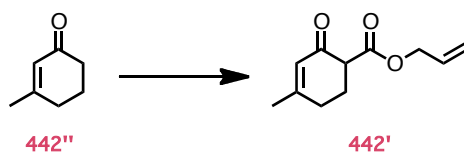
2932 (ν_{CHsp^3}) ; 2963 (ν_{CHsp^3}) ; 2091 (ν_{N_3}) ; 1732 ($\nu_{\text{C=O}}$ ester) ; 1706 ($\nu_{\text{C=O}}$ ketone) ; 1455 (δ_{CHsp^3}) ; 1353 (δ_{CHsp^3}) ; 1220 ($\nu_{\text{C-O}}$) ; 1149 ($\nu_{\text{C-O}}$) ; 983 (δ_{CHsp^2}) ; 939 (δ_{CHsp^2})

NMR ¹H (CDCl₃, 300MHz)

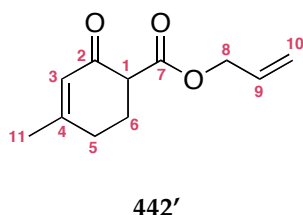
δ (ppm): 5.90 (ddt, 1H, J=17.3, 10.4, 5.8Hz, H₁₀) ; 5.33 (ddd, 1H, J=17.2, 2.9, 1.4Hz, H₁₁) ; 5.26 (ddd, 1H, J=10.3, 2.5, 1.2Hz, H_{11'}) ; 4.63 (dt, 2H, J=5.9, 1.6Hz, 2H, H₉) ; 3.27 (td, 2H, J=6.6, 3.0Hz, H₁₄) ; 2.66 (ddd, 1H, J=13.1, 8.1, 4.1Hz, H₃) ; 2.49 (ddd, 1H, J=12.6, 7.9, 3.9Hz, H_{3'}) ; 2.25-1.95 (m, 2H, H₁₂, H₇) ; 1.89-1.35 (m, 10H, H₁₃, H₁₂, H₇, H₆, H₅, H₄)

NMR ¹³C (CDCl₃, 75MHz)

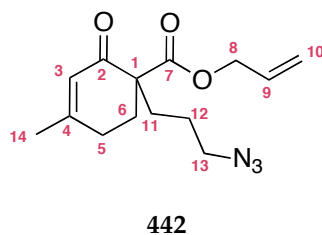
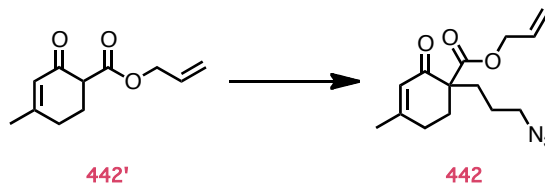
δ (ppm): 209.1 (C_Q, C₂) ; 172.0 (C_Q, C₈) ; 131.5 (CH, C₁₀) ; 119.1 (CH₂, C₁₁) ; 65.8 (CH₂, C₉) ; 62.5 (C_Q, C₁) ; 51.6 (CH₂, C₁₄) ; 42.1 (CH₂, C₃) ; 33.2 (CH₂, C₇) ; 32.7 (CH₂, C₁₂) ; 29.8 (CH₂) ; 25.6 (CH₂) ; 24.9 (CH₂) ; 24.3 (CH₂, C₁₃)

ALLYL 4-METHYL-2-OXOCYCLOHEX-3-ENECARBOXYLATE **442'****Procedure :**

To a solution of diisopropylamine (5.10 mL, 36.4 mmol, 2.00 equiv.) in THF (30.0 mL) was added dropwise *n*-BuLi (1.40 M in THF, 26.0 mL, 36.4 mmol, 2.00 equiv.) at -78°C. The reaction was warmed to room temperature, stirred for 15 min and cooled to -78°C. A solution of 3-methyl-cyclohexanone **442''** (2.00 g, 18.2 mmol, 1.00 equiv.) in THF (6.50 mL) was added dropwise *via* cannula and the mixture was stirred for 1h. Allyl chloroformate (2.90 mL, 27.3 mmol, 1.50 equiv.) was added dropwise and the reaction was stirred for 1h at -78°C and then at room temperature overnight. The mixture was quenched with water and the organic layer was collected. The aqueous phase was extracted with ethyl acetate. The combined organic extracts were washed with brine and water, dried over MgSO₄, filtered and concentrated *in vacuo*. The resulting oil was purified by flash chromatography on silica gel (heptane/EtOAc 100/0 to 80/20) to give the keto ester **442'** as a colorless oil (2.36 g, 67 %).

**M.S.** (ESI, m/z)217.1 [M+H]⁺195.1 [M+Na]⁺**H.R.M.S.** (ESI, m/z)Calculated for C₁₁H₁₅O₃⁺: 195.1021 ; Found: 195.1019**I.R** ν(cm⁻¹)2939 (ν_{CHsp3}) ; 1735 (ν_{C=O} ester) ; 1667 (ν_{C=O} ketone) ; 1631 (ν_{C=C}) ; 1432 (δ_{CHsp3}) ; 1379 (δ_{CHsp3}) ; 1150 (ν_{C-O}) ; 992 (δ_{CHsp2}) ; 928 (δ_{CHsp2})**NMR ¹H** (CDCl₃, 300MHz)δ(ppm): 5.99-5.84 (m, 2H, H₉, H₃) ; 5.34 (ddd, 1H, J=17.1, 3.1, 1.5Hz, H₁₀) ; 5.23 (ddd, 1H, J=10.4, 2.7, 1.4Hz, H_{10'}) ; 4.66 (dt, 2H, J=5.7, 1.8Hz, H₈) ; 3.39-3.31 (m, 1H, H₁) ; 2.50-2.14 (m, 4H, H₆, H₅) ; 1.98 (s, 3H, H₁₁)**NMR ¹³C** (CDCl₃, 75MHz)δ(ppm): 193.5 (C_Q, C₂) ; 169.9 (C_Q, C₇) ; 162.9 (C_Q, C₄) ; 131.8 (CH, C₉) ; 125.8 (CH, C₃) ; 118.3 (CH₂, C₁₀) ; 65.6 (CH₂, C₈) ; 52.5 (CH, C₁) ; 29.4 (CH₂, C₅) ; 25.5 (CH₂, C₆) ; 24.3 (CH, C₁₁)

**ALLYL 1-(3-AZIDOPROPYL)-4-METHYL-2-OXOCYCLOHEX-3-ENE
CARBOXYLATE **442****

**Procedure :**

To a solution of allyl 4-methyl-2-oxocyclohex-3-enecarboxylate **442'** (1.50 g, 7.72 mmol, 1.00 equiv.) in CH₃CN (15.4 mL) was added cesium carbonate (5.02 g, 15.4 mmol, 2.00 equiv). The resulting suspension was stirred at room temperature for 30 min, and then 1-azido-3-iodopropane (3.26 g, 15.4 mmol, 2.00 equiv) was added. The reaction was stirred at room temperature for 24 h, filtered through Celite® (EtOAc eluent) and the solvent was evaporated *in vacuo*. Purification by flash chromatography (Heptane/EtOAc 100/0 to 80/20) afforded β -ketoester **442** (1.38 g, 65%) as a yellow oil.

M.S. (ESI, m/z)

278.1 [M+H]⁺
300.1 [M+Na]⁺

H.R.M.S. (ESI, m/z)

Calculated for C₁₄H₁₉ N₃O₃Na⁺: 300.1324 ; Found: 300.1337

I.R ν (cm⁻¹)

2938 (ν_{CHsp^3}) ; 2865 (ν_{CHsp^3}) ; 2095 (ν_{N_3}) ; 1728 ($\nu_{\text{C=O}}$ ester) ; 1664 ($\nu_{\text{C=O}}$ ketone) ; 1635 ($\nu_{\text{C=C}}$) ; 1437 (δ_{CHsp^3}) ; 1380 (δ_{CHsp^3}) ; 1213 ($\nu_{\text{C-O}}$) ; 1176 ($\nu_{\text{C-O}}$) ; 989 (δ_{CHsp^2}) ; 924 (δ_{CHsp^2}) ; 734 (δ_{CHsp^2})

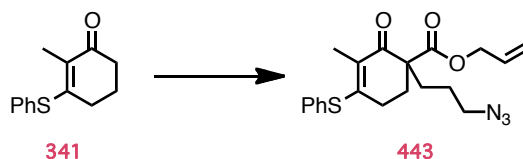
NMR ¹H (CDCl₃, 300MHz)

δ (ppm): 5.95-5.83 (m, 2H, H₉, H₃) ; 5.30 (d, 1H, J=17.1Hz, H₁₀) ; 5.24 (d, 1H, J=10.5Hz, H_{10'}) ; 4.62 (d, 2H, J=5.4Hz, H₈) ; 3.31 (t, 2H, J=6.8Hz, H₁₃) ; 2.54-2.44 (m, 2H, H₆, H₅) ; 2.32-2.23 (m, 1H, H_{6'}) ; 2.03-1.92 (m, 5H, H₁₄, H₁₁, H₅) ; 1.83 (td, 1H, J=12.6, 5.4Hz, H₁₁) ; 1.72-1.54 (m, 2H, H₁₂)

NMR ¹³C (CDCl₃, 75MHz)

δ (ppm): 195.4 (C_Q, C₂) ; 171.2 (C_Q, C₇) ; 161.5 (C_Q, C₄) ; 131.6 (CH, C₉) ; 125.9 (CH, C₃) ; 118.5 (CH₂, C₁₀) ; 65.7 (CH₂, C₈) ; 55.6 (C_Q, C₁) ; 51.6 (CH₂, C₁₃) ; 30.9 (CH₂, C₁₁) ; 30.1 (CH₂, C₆) ; 28.6 (CH₂, C₅) ; 24.3 (CH₂, C₁₂) ; 24.1 (CH₃, C₁₄)

**ALLYL 1-(3-AZIDOPROPYL)-3-METHYL-2-OXO-4-(PHENYLTHIO)
CYCLOHEX-3-ENECARBOXYLATE **443****

**Procedure :**

To a -78°C solution of diisopropylamine (2.60 mL, 18.3 mmol, 2.00 equiv.) in THF (10.0 mL) was added dropwise *n*-BuLi (1.40 M in THF, 13.1 mL, 18.3 mmol, 2.00 equiv.). The reaction was warmed to room temperature, stirred 20 min and cooled to -78°C . A solution of 3-(1,3-dithian-2-yl)-2-methylcyclohex-2-en-1-one **341** (2.00 g, 9.20 mmol, 1.00 equiv.) in THF (8.30 mL) was added dropwise via cannula, and the mixture was stirred 1h. Allyl chloroformate (1.50 mL, 13.7 mmol, 1.50 equiv.) was added dropwise and the reaction was stirred for 1h at -78°C and then, at room temperature overnight. The mixture was quenched with water and the aqueous phase was extracted with ethyl acetate. The combined organic extracts were washed with brine and water, dried over MgSO_4 , filtered and concentrated *in vacuo*. The isolated crude yellow oil was used in the next step without further purification.

To a solution of the crude yellow oil (1.00 g) in CH_3CN (6.00 mL) was added cesium carbonate (2.20 g, 6.60 mmol, 2.00 equiv.). The resulting suspension was stirred at room temperature for 30 min, and then 1-azido-3-iodopropane (1.40 g, 6.60 mmol, 2.00 equiv.) was added. The reaction was stirred at room temperature for 24 h, filtered through Celite (EtOAc eluent) and the solvent was evaporated *in vacuo*. Purification by flash chromatography (Heptane/EtOAc 100/0 to 90/10) afforded β -ketoester **443** (218 mg, 14% yield over two steps) as a yellow oil.

M.S. (ESI, m/z)

386.2 $[\text{M}+\text{H}]^+$
408.2 $[\text{M}+\text{Na}]^+$

H.R.M.S. (ESI, m/z)

Calculated for $\text{C}_{20}\text{H}_{23}\text{N}_3\text{O}_3\text{NaS}^+$: 408.1358 ; Found: 408.1367

IR $\nu(\text{cm}^{-1})$

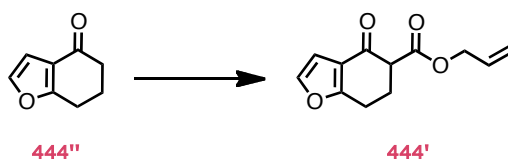
2930 (ν_{CHsp^3}) ; 2861 (ν_{CHsp^3}) ; 2092 (ν_{N_3}) ; 1729 ($\nu_{\text{C=O}}$ ester) ; 1652 ($\nu_{\text{C=O}}$ ketone) ; 1580 ($\nu_{\text{C=C}}$) ; 1475 (δ_{CHsp^3}) ; 1440 (δ_{CHsp^3}) ; 1230 ($\nu_{\text{C-O}}$) ; 751 (δ_{CHsp^2}) ; 705 (δ_{CHsp^2}) ; 691 (δ_{CHsp^2})

NMR ^1H (CDCl_3 , 300MHz)

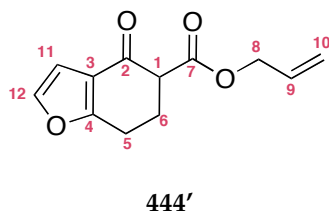
$\delta(\text{ppm})$: 7.54-7.48 (m, 2H, H_{19} , H_{15}) ; 7.48-7.38 (m, 3H, H_{18} , H_{17} , H_{16}) ; 5.89 (ddt, 1H, $J=17.2, 10.5, 5.5\text{Hz}$, H_9) ; 5.30 (d, 1H, $J=17.1\text{Hz}$, H_{10}) ; 5.25 (d, 1H, $J=10.4\text{Hz}$, $\text{H}_{10'}$) ; 4.66 (qd, 2H, $J=12.6, 5.4\text{Hz}$, H_8) ; 3.29 (t, 2H, $J=6.8\text{Hz}$, H_{13}) ; 2.39-2.09 (m, 4H, H_6 , H_5) ; 2.01 (s, 3H, H_{20}) ; 1.99-1.78 (m, 2H, H_{11}) ; 1.68-1.52 (m, 2H, H_{12})

NMR ^{13}C (CDCl_3 , 75MHz)

$\delta(\text{ppm})$: 191.8 (C_Q , C_2) ; 171.3 (C_Q , C_7) ; 156.7 (C_Q , C_4) ; 135.6 (2CH, C_{19} , C_{15}) ; 131.7 (CH, C_9) ; 129.6 (CH, C_{17}) ; 129.5 (C_Q , C_3) ; 129.4 (2CH, C_{18} , C_{16}) ; 129.1 (C_Q , C_{14}) ; 118.4 (CH_2 , C_{10}) ; 65.7 (CH_2 , C_8) ; 55.3 (C_Q , C_1) ; 51.6 (CH_2 , C_{13}) ; 31.2 (CH_2 , C_{11}) ; 30.0 (CH_2 , C_6) ; 27.3 (CH_2 , C_5) ; 24.3 (CH_2 , C_{12}) ; 12.8 (CH_3 , C_{20})

ALLYL 4-OXO-4,5,6,7-TETRAHYDROBENZOFURAN-5-CARBOXYLATE **444'****Procedure :**

To a solution of diisopropylamine (4.10 mL, 29.4 mmol, 2.00 equiv.) in THF (20.0 mL) was added dropwise *n*-BuLi (1.00 M in THF, 29.4 mL, 29.4 mmol, 2.00 equiv.) at -78°C. The reaction was warmed to room temperature, stirred for 15 min and cooled to -78°C. A solution of 6,7-dihydro-1-benzofuran-4(5H)-one **444''** (2.00 g, 14.7 mmol, 1.00 equiv.) in THF (9.40 mL) was added dropwise *via* cannula, and the mixture was stirred for 1h. Allyl chloroformate (2.30 mL, 22.0 mmol, 1.50 equiv.) was added dropwise and the reaction was stirred for 1h at -78°C and then, at room temperature overnight. The mixture was quenched with a saturated solution of NH₄Cl and the organic layer was collected. The aqueous phase was extracted with ethyl acetate. The combined organic extracts were washed with brine and water, dried over MgSO₄, filtered and concentrated *in vacuo*. The resulting oil was purified by flash chromatography on silica gel (heptane/EtOAc 100/0 to 80/20) to gave the keto ester **444'** as a colorless oil (2.10 g, 65 %).

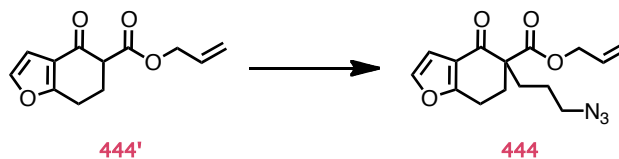
**L.C.M.S.** (ESI, m/z)221.1 [M+H]⁺243.2 [M+Na]⁺**H.R.M.S.** (ESI, m/z)Calculated for C₁₂H₁₂O₄Na⁺ : 243.0633 ; Found: 243.0630**IR** ν(cm⁻¹)2939 (ν_{CHsp3}) ; 1734 (ν_{C=O} ester) ; 1676 (ν_{C=O} ketone) ; 1455 (δ_{CHsp3}) ; 1153 (ν_{C-O} ester) ; 1120 (ν_{C-O} ether) ; 728 (δ_{CHsp2})**NMR ¹H** (CDCl₃, 300MHz)

δ(ppm): 7.33 (d, 1H, J=2.1Hz, H₁₂) ; 6.67 (d, 1H, J=2.1Hz, H₁₁) ; 5.90 (ddt, 1H, J=17.2, 10.4, 5.6Hz, H₉) ; 5.31 (ddd, 1H, J=17.2, 1.6, 1.3Hz, H₁₀) ; 5.22 (ddd, 1H, J=10.2, 2.2, 1.5Hz, H_{10'}) ; 4.65 (ddt, 2H, J=5.7, 2.4, 1.4Hz, H₈) ; 3.52 (dd, 1H, J=8.7, 4.8Hz, H₁) ; 3.05 (ddd, 1H, J=17.6, 6.1, 5.9Hz, H₅) ; 2.88 (ddd, 1H, J=17.6, 7.7, 5.5Hz, H_{5'}) ; 2.63-2.47 (m, 1H, H₆) ; 2.43-2.31 (m, 1H, H_{6'})

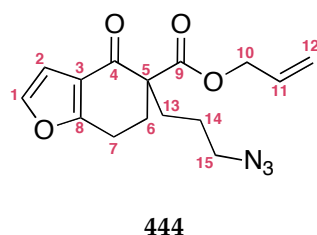
NMR ¹³C (CDCl₃, 75MHz)

δ(ppm): 188.5 (C_Q, C₂) ; 169.5 (C_Q, C₇) ; 166.5 (C_Q, C₄) ; 143.1 (CH, C₁₂) ; 131.7 (CH, C₉) ; 120.4 (C_Q, C₃) ; 118.4 (CH₂, C₁₀) ; 106.7 (CH, C₁₁) ; 65.8 (CH₂, C₈) ; 53.2 (CH, C₁) ; 25.8 (CH₂, C₆) ; 21.8 (CH₂, C₅)

ALLYL 5-(3-AZIDOPROPYL)-4-OXO-4,5,6,7-TETRAHYDROBENZOFURAN-5-CARBOXYLATE **444**

**Procedure :**

To a suspension of sodium hydride 60% (41.0 mg, 1.02 mmol, 1.50 equiv.) in anhydrous dimethylformamide (4.87 mL) was added allyl 4-oxo-4,5,6,7-tetrahydrobenzofuran-5-carboxylate **444'** (150 mg, 0.682 mmol, 1.00 equiv.) at 0°C. Then 1-azido-2-iodopropane (288 mg, 1.36 mmol, 2.00 equiv.) was added at 0°C and the reaction mixture was cooled to room temperature and stirred overnight. The crude residue was diluted with a solution of saturated NH₄Cl and extracted with ethyl acetate. The extracts were washed with brine, dried with MgSO₄, filtered and evaporated under reduced pressure. The crude was purified by flash chromatography on silica gel (heptane/EtOAc 100/0 to 90/10) to give compound **444** as a colorless oil (106.2 mg, 51 %).

**M.S.** (ESI, m/z)304.1 [M+H]⁺326.1 [M+Na]⁺**H.R.M.S.** (ESI, m/z)Calculated for C₁₅H₁₈N₃O₄⁺: 304.1297 ; Found: 304.1295**IR** ν(cm⁻¹)

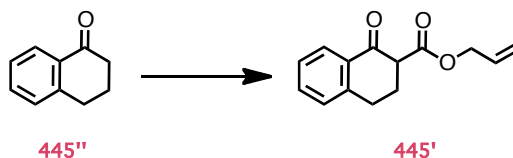
2932 (ν_{CHsp3}) ; 2095 (ν_{N3}) ; 1726 (ν_{C=O} ester) ; 1676 (ν_{C=O} ketone) ; 1600 (ν_{C=C}) ; 1436 (δ_{CHsp3}) ; 1359 (δ_{CHsp3}) ; 1230 (ν_{C-O}) ; 1178 (ν_{C-O}) ; 1118 (ν_{C-O}) ; 926 (δ_{CHsp2}) ; 735 (δ_{CHsp2})

NMR ¹H (CDCl₃, 300MHz)

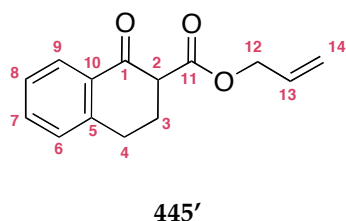
δ(ppm): 7.33 (d, 1H, J=2.1Hz, H₁) ; 6.69 (d, 1H, J=2.1Hz, H₂) ; 5.83 (ddt, 1H, J=17.2, 10.5, 5.6Hz, H₁₁) ; 5.23 (ddd, 1H, J=17.2, 3.0, 1.7Hz, H₁₂) ; 5.19 (ddd, 1H, J=10.5, 3.0, 1.5Hz, H_{12'}) ; 4.59 (dt, 2H, J=5.6, 1.6Hz, H₁₀) ; 3.32 (t, 2H, J=6.8Hz, H₁₅) ; 3.07 (ddd, 1H, J=17.8, 9.1, 5.5Hz, H₇) ; 2.88 (ddd, 1H, J=18.0, 5.6, 4.5Hz, H₇) ; 2.65 (ddd, 1H, J=13.6, 5.4, 4.5Hz, H₆) ; 2.22-1.84 (m, 3H, H₁₃, H₆) ; 1.72-1.57 (m, 2H, H₁₄)

NMR ¹³C (CDCl₃, 75MHz)

δ(ppm): 190.3 (C_Q, C₄) ; 170.8 (C_Q, C₉) ; 165.6 (C_Q, C₁) ; 143.2 (CH, C₁) ; 131.4 (CH, C₉) ; 120.5 (C_Q, C₃) ; 118.6 (CH₂, C₁₂) ; 107.1 (CH, C₂) ; 65.9 (CH₂, C₁₀) ; 57.2 (C_Q, C₅) ; 51.6 (CH₂, C₁₅) ; 31.0 (CH₂, C₁₃) ; 30.5 (CH₂, C₆) ; 24.4 (CH₂, C₁₄) ; 21.2 (CH₃, C₇)

ALLYL 1-OXO-1,2,3,4-TETRAHYDRONAPHTHALENE-2-CARBOXYLATE **445'****Procedure :**

To a cooled (0°C) suspension of NaH 95% (822 mg, 34.2 mmol, 2.50 equiv.) in THF (17.7 mL) was added dropwise a solution of α -tetralone **445''** (2.00 g, 13.7 mmol, 1.00 equiv.) in THF (4.40 mL). The reaction mixture was warmed to room temperature and diallyl carbonate (2.95 mL, 20.6 mmol, 1.50 equiv.) was added and the reaction stirred overnight. The mixture was quenched with a saturated solution of NH₄Cl and the organic layer was collected. The aqueous phase was extracted with ethyl acetate. The combined organic extracts were washed with brine and water, dried over MgSO₄, filtered and concentrated *in vacuo*. The resulting oil was purified by flash chromatography on silica gel (heptane/EtOAc 100/0 to 90/10) to give the keto ester **445'** as a colorless oil (1.37 mg, 44 %).

**M.S.** (ESI, m/z)229.1 [M-H]⁻**H.R.M.S.** (ESI, m/z)Calculated for C₁₄H₁₃O₃⁻: 229.0865 ; Found: 229.0875**IR** ν (cm⁻¹)

2947 (ν_{CHsp^3}) ; 1738 ($\nu_{\text{C=O}}$ ester) ; 1685 ($\nu_{\text{C=O}}$ ketone) ; 1640 ($\nu_{\text{C=C}}$) ; 1615 ($\nu_{\text{C=C}}$) ; 1453 (δ_{CHsp^3}) ; 1384 (δ_{CHsp^3}) ; 1260 ($\nu_{\text{C-O}}$) ; 1209 ($\nu_{\text{C-O}}$) ; 1083 ($\nu_{\text{C-O}}$) ; 768 (δ_{CHsp^2}) ; 744 (δ_{CHsp^2}) ; 727 (δ_{CHsp^2})

NMR ¹H (CDCl₃, 300MHz)

δ (ppm) for enol form: 12.40 (s, 0.6H, H_{OH}) ; 7.80 (d, 0.6H, J=7.2Hz, H₄) ; 7.38-7.13 (m, 1.8H, H₇, H₆, H₅) ; 6.09-5.80 (m, 0.6H, H₁₃) ; 5.43-5.19 (m, 0.6H, H₁₄) ; 4.73 (ddd, 0.6H, J=4.1, 1.4, 1.3Hz, H₁₂) ; 2.82 (dd, 1.2H, J= 8.8, 6.9Hz, H₉) ; 2.66-2.54 (appt, 1.2H, J=7.8Hz, H₁₀)

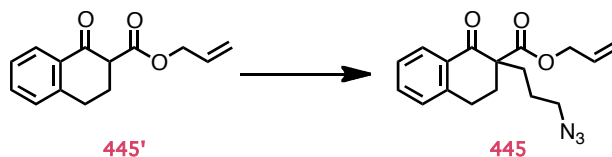
δ (ppm) for ketone form: 8.05 (d, 0.4H, J=7.9Hz, H₄) ; 7.49 (appt, 0.4H, J=7.5Hz, H₆) ; 7.38-7.13 (m, 0.8H, H₇, H₅) ; 6.09-5.80 (m, 0.4H, H₁₃) ; 5.43-5.19 (m, 0.4H, H₁₄) ; 4.73 (ddd, 0.4H, J=4.1, 1.4, 1.3Hz, H₁₂) ; 3.64 (dd, 0.4H, J=10.4, 4.8Hz, H₁) ; 3.13-2.92 (m, 0.8H, H₉) ; 2.55-2.32 (m, 0.8H, H₁₀)

NMR ¹³C (CDCl₃, 75MHz)

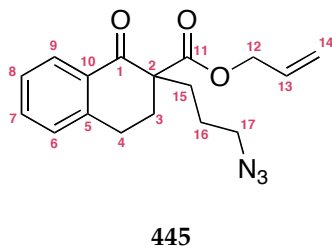
δ (ppm) for enol form: 172.3 (C_Q, C₁₁) ; 165.4 (C_Q, C₂) ; 139.4 (C_Q, C₈) ; 130.6 (CH, C₁₃) ; 130.0 (C_Q, C₃) ; 127.8 (CH, C₆) ; 127.4 (CH, C₅) ; 126.6 (CH, C₄) ; 124.4 (CH, C₇) ; 118.1 (CH₂, C₁₄) ; 96.8 (C_Q, C₁) ; 65.1 (CH₂, C₁₂) ; 27.7 (CH₂, C₉) ; 20.5 (CH₂, C₁₀)

δ (ppm) for ketone form: 193.0 (C_Q, C₂) ; 169.9 (C_Q, C₁₁) ; 143.6 (C_Q, C₈) ; 133.9 (CH, C₆) ; 132.2 (CH, C₁₃) ; 131.8 (C_Q, C₃) ; 128.8 (2CH, C₇, C₄) ; 126.9 (CH, C₅) ; 118.5 (CH₂, C₁₄) ; 65.8 (CH₂, C₁₂) ; 54.6 (CH, C₁) ; 27.8 (CH₂, C₉) ; 26.4 (CH₂, C₁₀)

ALLYL 2-(3-AZIDOPROPYL)-1-OXO-1,2,3,4-TETRAHYDRONAPHTHALENE-2-CARBOXYLATE **445**

**Procedure :**

To a solution of allyl 1-oxo-1,2,3,4-tetrahydronaphthalene-2-carboxylate **445'** (275 mg, 1.19 mmol, 1.00 equiv.) in CH₃CN (5.00 mL) was added cesium carbonate (918 mg, 2.38 mmol, 2.00 equiv.) at room temperature. The resulting suspension was stirred at the same temperature for 40 min and 1-azido-3-iodopropane (502 mg, 2.38 mmol, 2.00 equiv.) was added *via* cannula. The reaction was stirred overnight at room temperature and filtered through celite® (EtOAc eluent). The filtrate was evaporated and resulting oil was purified by flash chromatography on silica gel (heptane/EtOAc 100/0 to 80/20) to afford **445** as a colorless oil (227 mg, 61 %).

**445****M.S.** (ESI, m/z)314.1 [M+H]⁺336.1 [M+Na]⁺**H.R.M.S.** (ESI, m/z)Calculated for C₁₇H₂₀N₃O₃⁺: 314.1505; Found: 314.1501**I.R** ν(cm⁻¹)

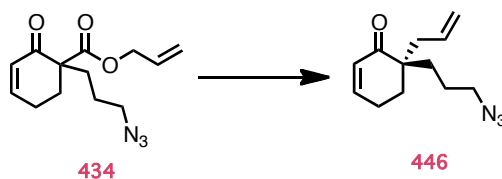
2940 (ν_{CHsp3}) ; 2092 (ν_{N3}) ; 1729 (ν_{C=O} ester) ; 1682 (ν_{C=O} ketone) ; 1600 (ν_{C=C}) ; 1453 (δ_{CHsp3}) ; 1354 (δ_{CHsp3}) ; 1230 (ν_{C-O}) ; 1174 (ν_{C-O}) ; 928 (δ_{CHsp2}) ; 740 (δ_{CHsp2})

NMR ¹H (CDCl₃, 300MHz)

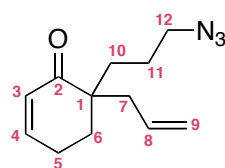
δ(ppm): 8.03 (dd, 1H, J=7.8, 1.6Hz, H₉) ; 7.46 (td, 1H, J=7.4, 1.5Hz, H₇) ; 7.30 (t, 1H, J=7.5Hz, H₈) ; 7.20 (d, 1H, J=7.5Hz, H₆) ; 5.78 (ddt, 1H, J=17.1, 10.6, 5.5Hz, H₁₃) ; 5.21-5.12 (m, 2H, H₁₄) ; 4.57 (ddd, 2H, J=5.6, 2.6, 1.3Hz, H₁₂) ; 3.30 (td, 2H, J=6.8, 1.1Hz, H₁₇) ; 3.06 (ddd, 1H, J=17.5, 9.7, 4.7Hz, H₄) ; 2.92 (dt, 1H, J=17.5, 5.0Hz, H₄) ; 2.57 (dt, 1H, J=13.7, 5.0Hz, H₃) ; 2.21-1.87 (m, 3H, H₁₅, H₃) ; 1.84-1.57 (m, 2H, H₁₆)

NMR ¹³C (CDCl₃, 75MHz)

δ(ppm): 195.1 (C_Q, C₁) ; 171.4 (C_Q, C₁₁) ; 142.9 (C_Q, C₅) ; 133.6 (CH, C₇) ; 131.9 (C_Q, C₁₀) ; 131.4 (CH, C₁₃) ; 128.7 (CH, C₆) ; 128.1 (CH, C₈) ; 126.9 (CH, C₉) ; 118.5 (CH₂, C₁₄) ; 65.8 (CH₂, C₁₂) ; 57.2 (C_Q, C₂) ; 51.6 (CH₂, C₁₇) ; 31.2 (CH₂, C₁₅) ; 30.9 (CH₂, C₃) ; 25.9 (CH₂, C₄) ; 24.4 (CH₂, C₁₆)

6-ALLYL-6-(3-AZIDOPROPYL)CYCLOHEX-2-ENONE 446**Procedure :**

A solution of tris(*p*-methoxydibenzylidene acetone)dipalladium (41.6 mg, 38.0 μ mol, 2.50 %mol) and (S)-*t*BuPHOX (36.8 mg, 95.0 μ mol, 6.25 %mol) in toluene (20.0 mL) was prepared under nitrogen atmosphere and allowed to stir at room temperature for 30 min. A solution of allyl 1-(3-azidopropyl)-2-oxocyclohex-3-enecarboxylate **434** (400 mg, 1.52 mmol, 1.00 equiv.) in toluene (10.0 mL) was transferred into the reaction *via* cannula and the reaction mixture was heated at 35°C overnight. Then, the mixture was cooled to room temperature, filtered through celite® (EtOAc eluent) and the solvent was evaporated *in vacuo*. Purification by flash chromatography on silica gel (heptane/EtOAc 90/10) gave keto-allyl **446** (258 mg, 77 %) as colorless oil.

**446****M.S.** (ESI, *m/z*)192.1 [M+H-N₂]⁺233.2 [M+H-N₂+ACN]⁺**H.R.M.S.** (ESI, *m/z*)Calculated for C₁₂H₁₈NO⁺ : 192.1388 ; Found: 192.1392**I.R.** ν (cm⁻¹)2932 (ν_{CHsp3}) ; 2089 (ν_{N3}) ; 1668 ($\nu_{\text{C=O}}$ ketone) ; 1638 ($\nu_{\text{C=C}}$) ; 1449 (δ_{CHsp3}) ; 913 (δ_{CHsp2})**NMR ¹H** (CDCl₃, 300MHz)

δ (ppm): 6.89 (dt, 1H, J=10.1, 4.0Hz, H₄) ; 5.94 (dt, 1H, J=10.0, 2.1Hz, H₃) ; 5.72 (ddt, 1H, J=16.6, 10.6, 7.3Hz, H₈) ; 5.13-5.03 (m, 2H, H₉) ; 3.26 (t, 2H, J=6.1Hz, H₁₂) ; 2.46-2.30 (m, 3H, H₅, H₇) ; 2.24 (dd, 1H, J=14.0, 7.6Hz, H₇) ; 1.91 (t, 2H, J=6.1Hz, H₆) ; 1.72-1.44 (m, 4H, H₁₀, H₁₁)

NMR ¹³C (CDCl₃, 75MHz)

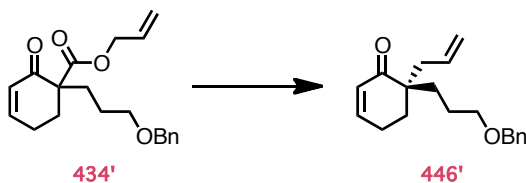
δ (ppm): 202.5 (C_Q, C₂) ; 148.6 (CH, C₄) ; 133.6 (CH, C₈) ; 128.8 (CH, C₃) ; 118.4 (CH₂, C₉) ; 51.9 (CH₂, C₁₂) ; 47.2 (C_Q, C₁) ; 38.9 (CH₂, C₇) ; 31.3 (CH₂, C₁₀) ; 30.7 (CH₂, C₆) ; 23.4 (CH₂, C₁₁) ; 22.9 (CH₂, C₅)

H.P.L.C.Eluent: Heptane/*i*PrOH (95/5), column: IC 5 μ m (4,6 x 250 mm), injection volume: 10 μ L, flow: 1.0 mL/min

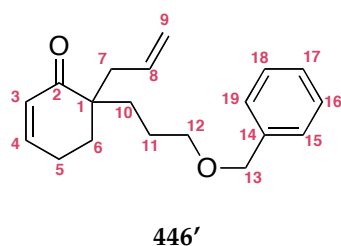
(R) Enantiomere: Retention time: 10.2 min , Area: 94.0 %

(S) Enantiomere: Retention time: 10.8 min , Area: 6.0 %

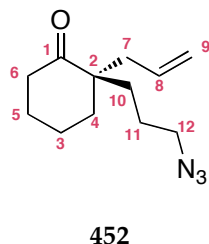
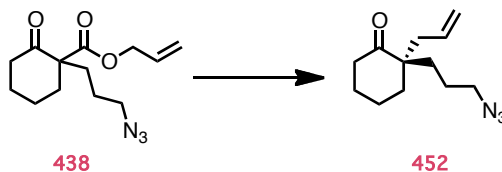
ee = 87%

6-ALLYL-6-(3-(BENZYLOXY)PROPYL)CYCLOHEX-2-ENONE 446'**Procedure :**

A solution of tris(*p*-methoxydibenzylidene acetone)dipalladium (7.00 mg, 7.60 μ mol, 2.50 %mol) and (*S*)-*t*BuPHOX (7.40 mg, 19.0 mmol, 6.25 %mol) in diethyl ether (3.00 mL) was prepared under nitrogen atmosphere and allowed to stir at room temperature for 30 min. A solution of allyl 1-(3-(benzyloxy)propyl)-2-oxocyclohex-3-enecarboxylate **434'** (100 mg, 0.304 mmol, 1.00 equiv.) in Et₂O (3.00 mL) was transferred into the reaction *via* cannula and the reaction mixture was heated at 35°C overnight. Then the mixture was cooled to room temperature, filtered through celite® (EtOAc eluent) and the solvent was evaporated *in vacuo*. Purification by flash chromatography (heptane/EtOAc 80/20) on silica gel gave keto-allyl **446'** (57.9 g, 67 %) as colorless oil.

**446'****M.S.** (ESI, *m/z*)285.2 [M+H]⁺307.2 [M+Na]⁺**H.R.M.S.** (ESI, *m/z*)Calculated for C₁₉H₂₅O₂⁺ : 285.1855 ; Found: 285.1856**IR** ν (cm⁻¹)3087 (ν_{CHsp^2}) ; 3030 (ν_{CHsp^2}) ; 2927 (ν_{CHsp^3}) ; 2855 (ν_{CHsp^3}) ; 1670 ($\nu_{\text{C=O}}$ ketone) ; 1631 ($\nu_{\text{C=C}}$) ; 1452 (δ_{CHsp^3}) ; 1386 (δ_{CHsp^3}) ; 1094 ($\nu_{\text{C-O}}$ ether) ; 913 (δ_{CHsp^2}) ; 735 (δ_{CHsp^2}) ; 697 (δ_{CHsp^2})**NMR ¹H** (CDCl₃, 300MHz) δ (ppm): 7.28-7.17 (m, 5H, H₁₅, H₁₆, H₁₇, H₁₈, H₁₉) ; 6.77 (dt, 1H, J=10.1, 3.9Hz, H₄) ; 5.84 (dt, 1H, J=10.0, 2.0Hz, H₃) ; 5.65 (ddt, 1H, J=15.9, 11.3, 7.4Hz, H₈) ; 5.02-4.93 (m, 2H, H₉) ; 4.40 (s, 2H, H₁₃) ; 3.37 (t, 2H, J=5.5Hz, H₁₂) ; 2.35-2.25 (m, 3H, H₇, H₅) ; 2.15 (ddd, 1H, J=14.0, 7.7, 1.8Hz, H₇) ; 1.82 (t, 2H, J=6.1Hz, H₆) ; 1.59-1.44 (m, 4H, H₁₀, H₁₁)**NMR ¹³C** (CDCl₃, 75MHz) δ (ppm): 202.9 (C_Q, C₂) ; 148.5 (CH, C₄) ; 138.6 (C_Q, C₄) ; 134.1 (CH, C₈) ; 128.8 (CH, C₃) ; 128.3 (2CH, C₁₆, C₁₈) ; 127.6 (2CH, C₁₅, C₁₉) ; 127.5 (CH, C₁₇) ; 118.0 (CH₂, C₉) ; 72.8 (CH₂, C₁₃) ; 70.7 (CH₂, C₁₂) ; 47.3 (C_Q, C₁) ; 39.0 (CH₂, C₇) ; 30.7 (2CH₂, C₆, C₁₀) ; 24.1 (CH₂, C₁₁) ; 23.0 (CH₂, C₅)**H.P.L.C.**Eluent: Heptane/EtOH (98/2), column: AD-H 5 μ m (4,6 x 150 mm), injection volume: 10 μ L, flow: 1.0 mL/min(*R*) Enantiomere: Retention time: 6.6 min , Area: 91.1 %(*S*) Enantiomere: Retention time: 7.2 min , Area: 8.9 %

ee = 83%

(R)-2-ALLYL-2-(3-AZIDOPROPYL)CYCLOHEXANONE 452**Procedure :**

A solution of tris(*p*-methoxydibenzylidene acetone)dipalladium (3.10 mg, 3.00 μ mol, 2.5 % mol) and (*S*)-*t*BuPHOX (2.70 mg, 7.00 μ mol, 6.25 % mol) in toluene (1.30 mL) at room temperature was prepared under argon atmosphere. A solution of allyl 1-(3-azidopropyl)-2-oxocyclohexanecarboxylate **438** (30.0 mg, 0.113 mmol, 1.00 equiv.) in toluene (1.00 mL) was transferred into the reaction *via* cannula and the reaction mixture was heated at 35°C overnight. Then the mixture was cooled to room temperature, filtered through celite® (EtOAc eluent) and the solvent was evaporated *in vacuo*. Purification by flash chromatography (heptane/EtOAc 80/20) gave keto-allyl **452** (14.7 mg, 59 %) as a colorless oil.

M.S. (ESI, m/z)

244.2 $[M+Na]^+$

H.R.M.S. (ESI, m/z)

Calculated for $C_{12}H_{19}N_3ONa^+$: 244.1426 ; Found: 244.1436

I.R. ν (cm^{-1})

2936 (ν_{CHsp^3}) ; 2861 (ν_{CHsp^3}) ; 2087 (ν_{N_3}) ; 1702 ($\nu_{C=O}$ ketone) ; 1639 ($\nu_{C=C}$) ; 1453 (δ_{CHsp^3}) ; 914 (δ_{CHsp^2})

NMR 1H ($CDCl_3$, 300MHz)

δ (ppm): 5.66 (ddt, 1H, $J=16.2, 10.8, 7.4$ Hz, H_8) ; 5.12-5.00 (m, 2H, H_9) ; 3.26 (td, 2H, $J=6.4, 3.0$ Hz, H_{12}) ; 2.45-2.19 (m, 3H, H_7, H_6) ; 2.24 (ddt, 1H, $J=14.4, 7.0, 1.1$ Hz, H_7) ; 1.90-1.25 (m, 10H, $H_{11}, H_{10}, H_5, H_4, H_3$)

NMR ^{13}C ($CDCl_3$, 75MHz)

δ (ppm): 214.4 (C_Q, C_1) ; 133.4 (CH, C_8) ; 118.2 (CH_2, C_9) ; 51.9 (CH_2, C_{12}) ; 51.2 (C_Q, C_2) ; 39.2 (CH_2, C_7) ; 39.1 (CH_2, C_6) ; 36.3 (CH_2, C_3) ; 31.8 (CH_2, C_{10}) ; 27.1 (CH_2, C_5) ; 23.2 (CH_2, C_{11}) ; 20.7 (CH_2, C_4)

H.P.L.C.

Eluent: Heptane/*i*PrOH (99/1), column: IA 5 μ m (4,6 x 250 mm), injection volume: 10 μ L, flow: 0.8 mL/min

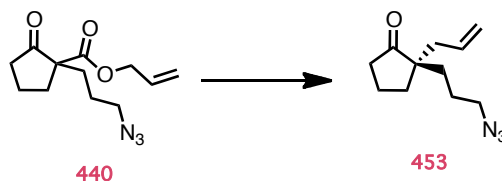
(*R*) Enantiomere: Retention time: 8.9 min , Area: 92.2 %

(*S*) Enantiomere: Retention time: 10.0 min , Area: 7.8 %

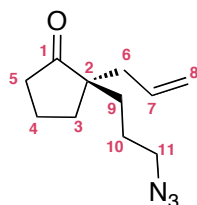
ee = 84%

 α_D

-19.30 ($c = 0.006, CHCl_3$)

(R)-2-ALLYL-2-(3-AZIDOPROPYL)CYCLOPENTANONE 453**Procedure :**

A solution of tris(*p*-methoxydibenzylidene acetone)dipalladium (5.50 mg, 4.97 μ mol, 2.50 % mol) and (S)-*t*BuPHOX (4.80 mg, 12.4 μ mol, 6.25 % mol) in hexane/toluene (2/1, v/v, 3.00 mL) at room temperature was prepared under argon atmosphere. A solution of allyl 1-(3-azidopropyl)-2-oxocyclopentanecarboxylate **440** (50 mg, 0.199 mmol, 1.00 equiv.) in hexane/toluene (2/1, v/v, 1.00 mL) was transferred into the reaction *via* cannula and the reaction mixture was heated at 35°C overnight. Then mixture was cooled to room temperature, filtered through celite® (EtOAc eluent) and the solvent was evaporated *in vacuo*. Purification by flash chromatography on silica gel (heptane/EtOAc 90/10) gave keto-allyl **453** (24.2 mg, 59 %) as a colorless oil.

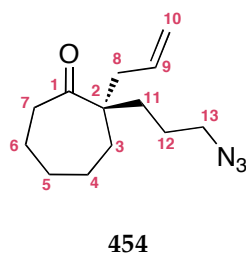
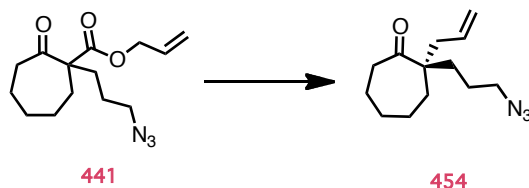
**453****M.S.** (ESI, m/z)180.1 [M+H]⁺**H.R.M.S.** (ESI, m/z)Calculated for C₁₁H₁₈NO⁺: 180.1388 ; Found: 180.1390**I.R.** ν (cm⁻¹)2930 (ν_{CHsp^3}) ; 2857 (ν_{CHsp^3}) ; 2090 (ν_{N_3}) ; 1730 ($\nu_{\text{C=O}}$ ketone) ; 1453 (δ_{CHsp^3}) ; 918 (δ_{CHsp^2})**NMR** ¹H (CDCl₃, 300MHz) δ (ppm): 5.68 (ddt, 1H, J=16.7, 10.6, 7.4Hz, H₇) ; 5.12-5.02 (m, 2H, H₈) ; 3.32-3.18 (m, 2H, H₁₁) ; 2.25 (t, 2H, J=7.6Hz, H₅) ; 2.17 (d, 2H, J=7.6Hz, H₆) ; 1.97-1.75 (m, 4H, H₄, H₃) ; 1.70-1.21 (m, 4H, H₁₀, H₉)**NMR** ¹³C (CDCl₃, 75MHz) δ (ppm): 133.4 (CH, C₇) ; 118.5 (CH₂, C₈) ; 51.8 (CH₂, C₁₁) ; 51.2 (C_Q, C₂) ; 39.4 (CH₂, C₆) ; 38.2 (CH₂, C₅) ; 32.9 (CH₂, C₃) ; 32.1 (CH₂, C₉) ; 23.7 (CH₂, C₁₀) ; 18.6 (CH₂, C₄)**H.P.L.C.**Eluent: Heptane/EtOH (99/1), column: IA 5 μ m (4,6 x 250 mm), injection volume: 10 μ L, flow: 1.0 mL/min

(R) Enantiomere: Retention time: 10.6 min , Area: 81.9 %

(S) Enantiomere: Retention time: 11.4 min , Area: 18.1 %

ee = 64%

 α_D -3.57 (c = 0.560, CHCl₃)

(R)-2-ALLYL-2-(3-AZIDOPROPYL)CYCLOHEPTANONE 454**Procedure :**

A solution of tris(*p*-methoxydibenzylidene acetone)dipalladium (4.90 mg, 4.50 μ mol, 2.50 % mol) and (*S*)-*t*BuPHOX (4.30 mg, 11.2 μ mol, 6.25 % mol) in hexane/toluene (2/1, v/v, 2.60 mL) at room temperature was prepared under argon atmosphere. A solution of allyl 1-(3-azidopropyl)-2-oxocycloheptanecarboxylate **441** (50 mg, 0.179 mmol, 1.00 equiv.) in hexane/toluene (2/1, v/v, 1.00 mL) was transferred into the reaction *via* cannula and the reaction mixture was heated at 35°C overnight. Then mixture was cooled to room temperature, filtered through celite® (EtOAc eluent) and the solvent was evaporated *in vacuo*. Purification by flash chromatography on silica gel (heptane/EtOAc 90/10) gave keto-allyl **454** (33.6 mg, 74 %) as a colorless oil.

M.S. (ESI, m/z)

208.2 [M+H-N₂]⁺

H.R.M.S. (ESI, m/z)

Calculated for C₁₃H₂₂NO⁺: 208.1701; Found: 208.1693

I.R. (cm⁻¹)

2929 (ν_{CHsp^3}); 2854 (ν_{CHsp^3}); 2091 (ν_{N_3}); 1696 ($\nu_{\text{C=O}}$ ketone); 1454 (δ_{CHsp^3}); 915 (δ_{CHsp^2})

NMR ¹H (CDCl₃, 300MHz)

δ (ppm): 5.68 (ddt, 1H, J=16.7, 10.4, 7.4Hz, H₉); 5.11-5.01 (m, 2H, H₁₀); 3.23 (t, 2H, J=5.9Hz, H₁₃); 2.65-2.34 (m, 3H, H₈, H₇); 2.16 (dd, 1H, J=14.4, 7.7Hz, H₈); 1.85-1.35 (m, 12H, H₁₂, H₁₁, H₆, H₅, H₄, H₃)

NMR ¹³C (CDCl₃, 75MHz)

δ (ppm): 216.5 (C_Q, C₁); 133.8 (CH, C₉); 118.3 (CH₂, C₁₀); 53.4 (C_Q, C₂); 51.8 (CH₂, C₁₃); 40.7 (CH₂, C₇); 38.5 (CH₂, C₈); 34.1 (CH₂, C₁₁); 32.8 (CH₂, C₃); 30.6 (CH₂, C₅); 26.5 (CH₂, C₁₂); 24.2 (CH₂, C₆); 23.5 (CH₂, C₄)

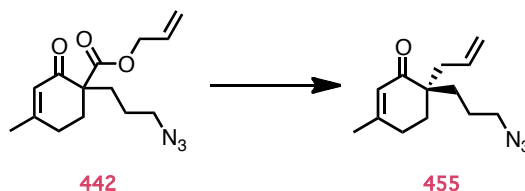
H.P.L.C.

Eluent: Heptane/EtOH (99/1), column: IA 5 μ m (4,6 x 250 mm), injection volume: 10 μ L, flow: 1.0 mL/min

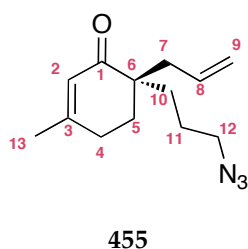
(*R*) Enantiomere: Retention time: 9.3 min, Area: 85.9 %

(*S*) Enantiomere: Retention time: 10.3 min, Area: 14.1 %

ee = 70%

(S)-6-ALLYL-6-(3-AZIDOPROPYL)-3-METHYLCYCLOHEX-2-ENONE 455**Procedure :**

A solution of tris(*p*-methoxydibenzylidene acetone)dipalladium (3.00 mg, 2.70 μ mol, 2.50 % mol) and (*S*)-*t*BuPHOX (2.60 mg, 6.8 μ mol, 6.25 % mol) in toluene (1.20 mL) at room temperature was prepared under an argon atmosphere. A solution of allyl 1-(3-azidopropyl)-4-methyl-2-oxocyclohex-3-enecarboxylate **442** (30.0 mg, 0.108 mmol, 1.00 equiv.) in toluene (1.00 mL) was transferred into the reaction *via* cannula. Then the reaction mixture was heated at 35°C overnight. The mixture was cooled to room temperature, filtered through celite® (EtOAc eluent) and the solvent was evaporated *in vacuo*. Purification of the residue by flash chromatography on silica gel (heptane/EtOAc 100/0 to 90/10) gave keto-allyl **455** (6.2 mg, 25 %) as a yellow oil.

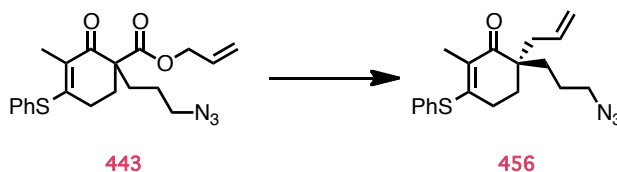
**M.S.**(ESI, m/z)234.2 [M+H]⁺**H.R.M.S.** (ESI, m/z)Calculated for C₁₃H₂₀N₃O⁺: 234.1606 ; Found: 234.1597**I.R** ν (cm⁻¹)2928 (ν_{CHsp^3}) ; 2865 (ν_{CHsp^3}) ; 2096 (ν_{N_3}) ; 1664 ($\nu_{\text{C=O}}$ ketone) ; 1640 ($\nu_{\text{C=C}}$) ; 1437 (δ_{CHsp^3}) ; 909 (δ_{CHsp^2})**NMR** ¹H (CDCl₃, 300MHz)

δ (ppm): 5.82-5.62 (m, 2H, H₈, H₂) ; 5.11-5.01 (m, 2H, H₉) ; 3.24 (t, 2H, J=6.1Hz, H₁₂) ; 2.37-2.27 (m, 3H, H₁₁, H₇) ; 2.21 (ddt, 1H, J=13.9, 7.5, 1.1Hz, H₇) ; 1.93 (s, 3H, H₁₃) ; 1.87 (t, 2H, J=6.2Hz, H₁₀) ; 1.68-1.42 (m, 4H, H₅, H₄)

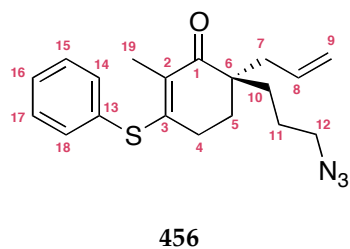
NMR ¹³C (CDCl₃, 75MHz)

δ (ppm): 202.3 (C_Q, C₁) ; 160.4 (C_Q, C₃) ; 133.8 (CH, C₈) ; 125.7 (CH, C₂) ; 118.2 (CH₂, C₉) ; 51.9 (CH₂, C₁₂) ; 46.0 (C_Q, C₆) ; 39.1 (CH₂, C₇) ; 31.4 (CH₂, C₅) ; 30.7 (CH₂, C₁₀) ; 28.0 (CH₂, C₁₁) ; 24.0 (CH₃, C₁₃) ; 23.5 (CH₂, C₄)

**(S)-6-ALLYL-6-(3-AZIDOPROPYL)-2-METHYL-3-(PHENYLTHIO)
CYCLOHEX-2-ENONE **456****

**Procedure :**

A solution of tris(*p*-methoxydibenzylidene acetone)dipalladium (1.50 mg, 1.40 μ mol, 2.50 % mol) and (*S*)-*t*BuPHOX (1.40 mg, 3.5 μ mol, 6.25 % mol) in toluene (0.60 mL) at room temperature was prepared under an argon atmosphere. A solution of allyl 1-(3-azidopropyl)-3-methyl-2-oxo-4-(phenylthio)cyclohex-3-enecarboxylate **443** (21.5 mg, 0.560 mmol, 1.00 equiv.) in toluene (0.52 mL) was transferred into the reaction *via* cannula. Then the reaction mixture was heated at 60°C overnight. The mixture was cooled to room temperature, filtered through celite® (EtOAc eluent) and the solvent was evaporated *in vacuo*. Purification of the residue by flash chromatography on silica gel (heptane/EtOAc 100/0 to 80/20) gave keto-allyl **456** (5.2 mg, 27 %) as a yellow oil.

**456****M.S.**(ESI, *m/z*)342.1 [M+H]⁺**H.R.M.S.**(ESI, *m/z*)Calculated for C₁₉H₂₄N₃OS⁺: 342.1640 ; Found: 342.1631**I.R.** ν (cm⁻¹)2924 (ν_{CHsp^3}) ; 2856 (ν_{CHsp^3}) ; 2091 (ν_{N_3}) ; 1649 ($\nu_{\text{C}=\text{C}}$) ; 1580 ($\nu_{\text{C}=\text{C}}$) ; 1439 (δ_{CHsp^3})**NMR** ¹H (CDCl₃, 300MHz)

δ (ppm): 7.51-7.46 (m, 2H, H₁₈, H₁₄) ; 7.42-4.34 (m, 3H, H₁₇, H₁₆, H₁₅) ; 5.64 (ddt, 1H, J=16.7, 10.4, 7.3Hz, H₈) ; 5.01 (m, 2H, H₉) ; 3.21 (t, 2H, J=6.8Hz, H₁₂) ; 2.30 (dd, 1H, J=13.9, 7.4Hz, H₇) ; 2.16 (m, 3H, H₇, H₄) ; 1.94 (t, 3H, J=1.8Hz, H₁₉) ; 1.75 (t, 2H, J=6.3Hz, H₅) ; 1.62-1.38 (m, 4H, H₁₁, H₁₀)

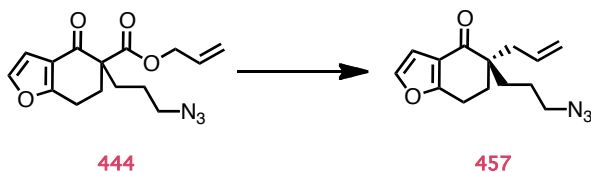
NMR ¹³C (CDCl₃, 75MHz)

δ (ppm): 198.1 (C_Q, C₁) ; 155.6 (C_Q, C₃) ; 135.6 (C_Q, C₁₃) ; 135.5 (2CH, C₁₈, C₁₄) ; 133.9 (CH, C₈) ; 129.5 (CH, C₁₆) ; 129.4 (2CH, C₁₇, C₁₅) ; 118.2 (CH₂, C₉) ; 116.0 (C_Q, C₂) ; 51.9 (CH₂, C₁₂) ; 45.7 (C_Q, C₆) ; 39.5 (CH₂, C₇) ; 31.8 (CH₂, C₁₀) ; 30.5 (CH₂, C₅) ; 26.5 (CH₂, C₄) ; 23.5 (CH₂, C₁₁) ; 12.7 (CH₃, C₁₉)

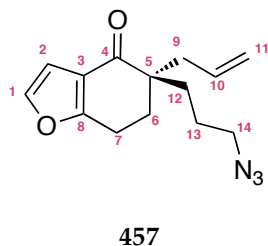
H.P.L.C.Eluent: Heptane/EtOH (99/1), column: OJ-H 5 μ m (4,6 x 150 mm), injection volume: 10 μ L, flow: 1.0 mL/min(*R*) Enantiomere: Retention time: 6.7 min , Area: 94.5 %(*S*) Enantiomere: Retention time: 7.7 min , Area: 5.5 %

ee = 89%

[α]_D²⁵-25.96 (*c* = 0.104, CHCl₃)

(S)-5-ALLYL-5-(3-AZIDOPROPYL)-6,7-DIHYDROBENZOFURAN-4(5H)-ONE 457**Procedure :**

A solution of tris(*p*-methoxydibenzylidene acetone)dipalladium (9.30 mg, 8.00 μ mol, 2.50 % mol) and (*S*)-*t*BuPHOX (8.30 mg, 21.0 μ mol, 6.25 % mol) in toluene (2.40 mL) at room temperature was prepared under argon atmosphere. A solution of allyl 5-(3-azidopropyl)-4-oxo-4,5,6,7-tetrahydrobenzofuran-5-carboxylate **444** (104 mg, 0.341 mmol, 1.00 equiv.) in toluene (1.00 mL) was transferred into the reaction *via* cannula and the reaction mixture was heated at 35°C overnight. Then the mixture was cooled to room temperature, filtered through celite® (EtOAc eluent) and the solvent was evaporated *in vacuo*. Purification by flash chromatography on silica gel (heptane/EtOAc 90/10) gave keto-allyl **457** (48.1 mg, 51 %) as yellow oil.

**M.S.**(ESI, *m/z*)260.1 [M+H]⁺282.1 [M+Na]⁺**H.R.M.S.** (ESI, *m/z*)Calculated for C₁₄H₁₈N₃O₂⁺: 260.1399 ; Found: 260.1387**I.R** ν (cm⁻¹)2937 (ν_{CHsp^3}) ; 2089 (ν_{N_3}) ; 1668 ($\nu_{\text{C=O}}$ ketone) ; 1602 ($\nu_{\text{C=C}}$) ; 1436 (δ_{CHsp^3}) ; 1351 (δ_{CHsp^3}) ; 1119 ($\nu_{\text{C-O}}$ ether) ; 916 (δ_{CHsp^2}) ; 736 (δ_{CHsp^2})**NMR** ¹H (CDCl₃, 300MHz)

δ (ppm): 7.32 (d, 1H, *J*=1.9Hz, H₁) ; 6.66 (d, 1H, *J*=2.1Hz, H₂) ; 5.74 (ddt, 1H, *J*=16.2, 10.9, 7.4Hz, H₁₀) ; 5.13-5.03 (m, 2H, H₁₁) ; 3.25 (t, 2H, *J*=6.4Hz, H₁₄) ; 2.91 (t, 2H, *J*=6.4Hz, H₇) ; 2.43 (ddt, 1H, *J*=13.9, 7.2, 1.4Hz, H₉) ; 2.27 (dd, 1H, *J*=14.0, 7.5Hz, H₉) ; 2.08 (t, 2H, *J*=6.4Hz, H₆) ; 1.79-1.46 (m, 4H, H₁₃, H₁₂)

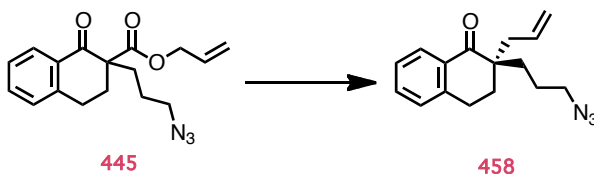
NMR ¹³C (CDCl₃, 75MHz)

δ (ppm): 197.2 (C_Q, C₄) ; 165.1 (C_Q, C₈) ; 143.0 (CH, C₁) ; 133.6 (CH, C₁₀) ; 120.0 (C_Q, C₃) ; 107.1 (CH, C₂) ; 51.4 (CH₂, C₁₄) ; 48.0 (C_Q, C₅) ; 39.3 (CH₂, C₉) ; 31.6 (CH₂, C₁₂) ; 31.2 (CH₂, C₆) ; 23.7 (CH₂, C₁₃) ; 20.4 (CH₂, C₇)

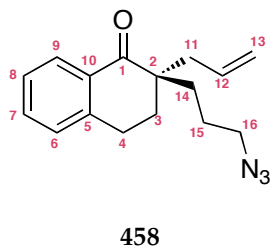
H.P.L.C.Eluent: Heptane/*i*PrOH (95/5), column: IC 5 μ m (4,6 x 250 mm), injection volume: 10 μ L, flow: 1.0 mL/min(*R*) Enantiomere: Retention time: 8.8 min , Area: 91.6 %(*S*) Enantiomere: Retention time: 9.5 min , Area: 8.4 %

ee = 83%

 α_D -7.27 (*c* = 0.110, CHCl₃)

(R)-2-ALLYL-2-(3-AZIDOPROPYL)-3,4-DIHYDRONAPHTHALEN-1(2H)-ONE 458**Procedure :**

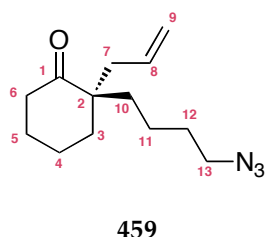
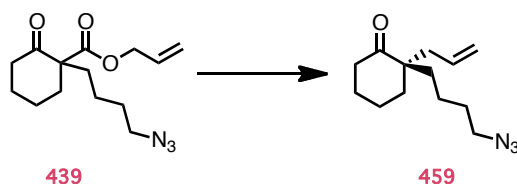
A solution of tris(*p*-methoxydibenzylidene acetone)dipalladium (1.50 mg, 4.00 μ mol, 2.50 % mol) and (S)-*t*BuPHOX (1.70 mg, 16.0 μ mol, 6.25 % mol) in toluene (440 μ L) at room temperature was prepared under argon atmosphere. A solution of allyl 2-(3-azidopropyl)-1-oxo-1,2,3,4-tetrahydronaphthalene-2-carboxylate **445** (20 mg, 0.064 mmol, 1.00 equiv.) in toluene (200 μ L) was transferred into the reaction *via* cannula and the reaction mixture was heated at 60°C overnight. Then the mixture was cooled to room temperature, filtered through celite® (EtOAc eluent) and the solvent was evaporated *in vacuo*. Purification by flash chromatography on silica gel (heptane/EtOAc 90/10) gave keto-allyl **458** (8.5 mg, 49 %) as a yellow oil.

**458****M.S.** (ESI, *m/z*)270.1 [M+H]⁺256.1 [M+H-N]⁺**H.R.M.S.** (ESI, *m/z*)Calculated for C₁₆H₂₀N₃O⁺: 270.1606 ; Found: 270.1593**I.R.** ν (cm⁻¹)2928 (ν_{CHsp^3}) ; 2089 (ν_{N_3}) ; 1676 ($\nu_{\text{C=O}}$ ketone) ; 1638 ($\nu_{\text{C=C}}$) ; 1600 ($\nu_{\text{C=C}}$) ; 1453 (δ_{CHsp^3}) ; 1356 (δ_{CHsp^3}) ; 1221 ($\nu_{\text{C-O}}$) ; 917 (δ_{CHsp^2}) ; 741 (δ_{CHsp^2})**NMR** ¹H (CDCl₃, 300MHz)

δ (ppm): 8.04 (dd, 1H, J=7.8, 1.6Hz, H₉) ; 7.47 (td, 1H, J=7.5, 1.5Hz, H₇) ; 7.31 (t, 1H, J=7.5Hz, H₈) ; 7.22 (d, 1H, J=7.5Hz, H₆) ; 5.77 (ddt, 1H, J=15.9, 11.0, 7.4Hz, H₁₂) ; 5.13-5.04 (m, 2H, H₁₃) ; 3.25 (t, 2H, J=6.3Hz, H₁₆) ; 3.00 (td, 2H, J=6.4, 2.9Hz, H₄) ; 2.47 (dd, 1H, J=14.1, 7.2Hz, H₁₁) ; 2.31 (dd, 1H, J=14.1, 7.4Hz, H_{11'}) ; 2.05 (t, 2H, J=6.4Hz, H₃) ; 1.83-1.51 (m, 4H, H₁₄, H₁₅)

NMR ¹³C (CDCl₃, 75MHz)

δ (ppm): 200.9 (C_Q, C₁) ; 143.0 (C_Q, C₅) ; 133.6 (CH, C₁₂) ; 133.2 (CH, C₇) ; 131.7 (C_Q, C₁₀) ; 128.7 (CH, C₆) ; 128.0 (CH, C₉) ; 126.7 (CH, C₈) ; 118.5 (CH₂, C₁₃) ; 51.9 (CH₂, C₁₆) ; 47.4 (C_Q, C₂) ; 39.0 (CH₂, C₁₁) ; 31.5 (CH₂, C₁₄) ; 30.9 (CH₂, C₃) ; 25.0 (CH₂, C₄) ; 23.5 (CH₂, C₁₅)

(R)-2-ALLYL-2-(4-AZIDOBUTYL)CYCLOHEXANONE 459**Procedure :**

A solution of tris(*p*-methoxydibenzylidene acetone)dipalladium (2.90 mg, 2.70 μ mol, 2.50 % mol) and (*S*)-*t*BuPHOX (2.60 mg, 6.7 μ mol, 6.25 % mol) in THF (1.10 mL) at room temperature was prepared under argon atmosphere. A solution of allyl 1-(3-azidopropyl)-4-methyl-2-oxocyclohex-3-enecarboxylate **439** (30.0 mg, 0.107 mmol, 1.00 equiv.) in THF (1.00 mL) was transferred into the reaction *via* cannula and the reaction mixture was heated at 35°C overnight. Then the mixture was cooled to room temperature, filtered through celite® (EtOAc eluent) and the solvent was evaporated *in vacuo*. Purification by flash chromatography on silica gel (heptane/EtOAc 100/0 to 90/10) gave keto-allyl **459** (16.7 mg, 66 %) as a yellow oil.

M.S. (ESI, *m/z*)

258.2 [*M*+Na]⁺

H.R.M.S. (ESI, *m/z*)

Calculated for C₁₃H₂₁N₃ONa⁺: 258.1582 ; Found: 258.1592

I.R. (cm⁻¹)

2938 (ν_{CHsp^3}) ; 2866 (ν_{CHsp^3}) ; 2082 (ν_{N_3}) ; 1703 ($\nu_{\text{C=O}}$ ketone) ; 1638 ($\nu_{\text{C=C}}$) ; 1455 (δ_{CHsp^3})

NMR ¹H (CDCl₃, 300MHz)

δ (ppm): 5.66 (dddd, 1H, *J*=16.0, 10.9, 7.7, 7.3Hz, H₈) ; 5.09-4.98 (m, 2H, H₉) ; 3.26 (t, 2H, *J*=6.9Hz, H₁₃) ; 2.37 (m, 3H, H₇, H₆) ; 2.24 (dd, 1H, *J*=14.4, 7.2Hz, H₇) ; 1.95-1.04 (m, 12H, H₁₂, H₁₁, H₁₀, H₅, H₄, H₃)

NMR ¹³C (CDCl₃, 75MHz)

δ (ppm): 214.6 (C_Q, C₁) ; 133.8 (CH, C₈) ; 118.0 (CH₂, C₉) ; 51.4 (C_Q, C₂) ; 51.2 (CH₂, C₁₃) ; 39.2 (CH₂, C₇) ; 39.1 (CH₂, C₆) ; 36.3 (CH₂, C₁₀) ; 34.2 (CH₂, C₃) ; 29.4 (CH₂, C₁₂) ; 27.1 (CH₂, C₅) ; 20.8 (CH₂, C₄) ; 20.7 (CH₂, C₁₁)

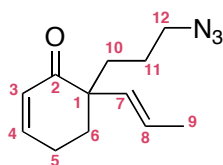
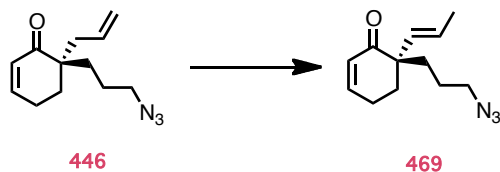
H.P.L.C.

Eluent: Heptane/*i*PrOH (99/1), column: IA 5 μ m (4,6 x 250 mm), injection volume: 10 μ L, flow: 1.0 mL/min

(*R*) Enantiomere: Retention time: 8.6 min , Area: 90.2 %

(*S*) Enantiomere: Retention time: 9.4 min , Area: 9.8 %

ee = 84%

(E)-6-(3-AZIDOPROPYL)-6-(PROP-1-ENYL)CYCLOHEX-2-ENONE 469**469****Procedure :**

A solution of 6-allyl-6-(3-azidopropyl)cyclohex-2-en-1-one **446** (20.0 mg, 91.0 μmol , 1.00 equiv.) and bis(acetonitrile)dichloropalladium (2.40 mg, 9.00 μmol , 10.0 % mol) in degazed toluene (200 μL) was heated at 80°C overnight. The reaction was cooled to room temperature, filtered through celite® (EtOAc eluent) and the solvent was evaporated *in vacuo*. The residue was purified by flash chromatography on silica gel (heptane/EtOAc 80/20) to afford the product **469** as a colorless oil (16.6 mg, 83 %).

M.S. (ESI, m/z)

242.1 [M+Na]⁺

H.R.M.S. (ESI, m/z)

Calculated for C₁₂H₁₇N₃ONa⁺: 242.1269 ; Found: 242.1262

I.R. (cm⁻¹)

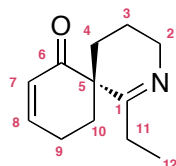
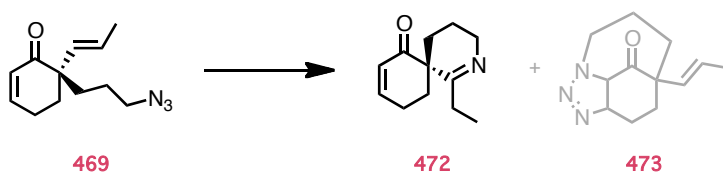
3036 ($\nu_{\text{CHsp}2}$) ; 2921 ($\nu_{\text{CHsp}3}$) ; 2089 ($\nu_{\text{N}3}$) ; 1671 ($\nu_{\text{C=O}}$ ketone) ; 1631 ($\nu_{\text{C=C}}$) ; 1448 ($\delta_{\text{CHsp}3}$) ; 1385 ($\delta_{\text{CHsp}3}$) ; 969 ($\delta_{\text{CHsp}2}$)

NMR ¹H (CDCl₃, 300MHz)

δ (ppm): 6.78 (ddd, 1H, J=10.1, 4.7, 3.3Hz, H₄) ; 5.88 (ddd, 1H, J=10.0, 2.4, 1.6Hz, H₃) ; 5.46-5.26 (m, 2H, H₇, H₈) ; 3.18 (t, 2H, J=6.4Hz, H₁₂) ; 2.41-2.15 (m, 2H, H₅) ; 1.96-1.78 (m, 2H, H₆) ; 3.18 (d, 3H, J=5.0Hz, H₉) ; 1.59-1.40 (m, 4H, H₁₀, H₁₁)

NMR ¹³C (CDCl₃, 75MHz)

δ (ppm): 201.3 (C_Q, C₂) ; 148.9 (CH, C₄) ; 131.4 (CH, C₇) ; 129.1 (CH, C₃) ; 126.2 (CH, C₈) ; 51.9 (CH₂, C₁₂) ; 50.3 (C_Q, C₁) ; 33.9 (CH₂, C₁₀) ; 31.5 (CH₂, C₆) ; 23.8 et 23.4 (2CH₂, C₅, C₁₁) ; 18.3 (CH₃, C₉)

(R)-1-ETHYL-2-AZASPIRO[5.5]UNDECA-1,8-DIEN-7-ONE 472**472****Procedure :**

A solution of (*E*)-6-(3-azidopropyl)-6-(prop-1-enyl)cyclohex-2-enone **469** (50.0 mg, 0.228 mmol, 1.00 equiv.) in toluene (2.00 mL) was placed under microwave irradiations (120 °C, 300 W) for 1h30. After cooling to room temperature and solvent evaporation, the crude was purified by flash chromatography (DCM/EtOH 100/0 to 90/10 and then DCM/EtOH/NH₄OH 90/9/1). The spiroimine **472** was obtained as a yellow oil (21.7 mg, 49%) and triazoline **473** as a yellow oil (16.1 mg, 50%)

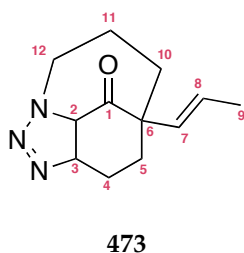
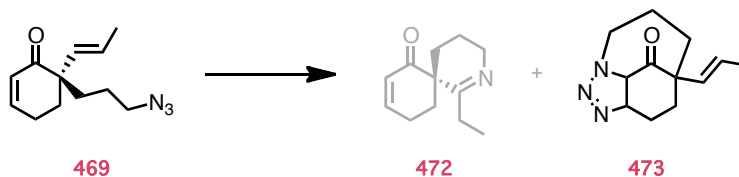
M.S. (ESI, m/z)192.1 [M+H]⁺**H.R.M.S.** (ESI, m/z)Calculated for C₁₂H₁₈NO⁺: 192.1388; Found: 192.1393**I.R.** ν(cm⁻¹)2929 (ν_{CHsp3}) ; 2856 (ν_{CHsp3}) ; 1702 (ν_{C=O}) ; 1655 (ν_{C=N}) ; 1455 (δ_{CHsp3}) ; 734 (δ_{CHsp2})**NMR ¹H** (CDCl₃, 300MHz)

δ(ppm): 6.87 (ddt, 1H, J=10.2, 3.7, 1.8Hz, H₈) ; 5.91 (dd, 1H, J=10.1, 2.5Hz, H₇) ; 3.67 (t, 1H, J=7.2Hz, H₂) ; 3.57-3.42 (m, 1H, H_{2'}) ; 2.50-2.22 (m, 3H, H₁₀, H₉) ; 2.14-2.02 (m, 2H, H₁₁) ; 1.88-1.66 (m, 3H, H₁₀, H₄) ; 1.58-1.46 (m, 2H, H₃) ; 1.02 (t, 3H, J=7.3Hz, H₁₂)

NMR ¹³C (CDCl₃, 75MHz)

δ(ppm): 200.1 (C_Q, C₆) ; 170.8 (C_Q, C₁) ; 148.8 (CH, C₈) ; 128.4 (CH, C₇) ; 51.5 (C_Q, C₅) ; 49.2 (CH₂, C₂) ; 30.8 (CH₂, C₁₀) ; 29.5 (CH₂, C₁₁) ; 27.9 (CH₂, C₄) ; 22.1 (CH₂, C₉) ; 18.0 (CH₂, C₃) ; 11.4 (CH₃, C₁₂)

(E)-5-(PROP-1-EN-1-YL)-5,6,7,8-TETRAHYDRO-3H-3,5-ETHANO[1,2,3]TRIAZOLO[1,5-A]AZEPIN-4(3AH)-ONE 473



Procedure :

A solution of (*E*)-6-(3-azidopropyl)-6-(prop-1-enyl)cyclohex-2-enone **469** (50.0 mg, 0.228 mmol, 1.00 equiv.) in toluene (2.00 mL) was placed under microwave irradiations (120 °C, 300 W) for 1h30. After cooling to room temperature and solvent evaporation, the crude was purified by flash chromatography (DCM/EtOH 100/0 to 90/10 and then DCM/EtOH/NH₄OH 90/9/1). The spiroimine **472** was obtained as a yellow oil (21.7 mg, 49%) and triazoline **473** as a yellow oil (16.1 mg, 50%)

M.S. (ESI, m/z)

192.1 [M+H-N₂]⁺
220.1 [M+H]⁺

H.R.M.S. (ESI, m/z)

Calculated for C₁₂H₁₈NO⁺: 192.1388 ; Found: 192.1387

I.R. ν(cm⁻¹)

2923 (ν_{CHsp3}) ; 2855 (ν_{CHsp3}) ; 1712 (ν_{C=O} ketone) ; 1660 (ν_{C=C}) ; 1449 (ν_{C-N}) ; 1489 (δ_{CHsp3}) ; 971 (δ_{CHsp2})

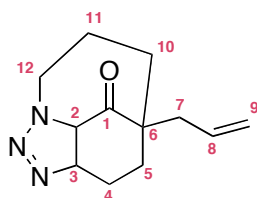
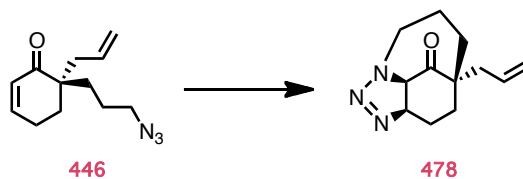
NMR ¹H (CDCl₃, 300MHz)

δ(ppm): 5.72 (dq, 1H, J=15.8, 1.3Hz, H₇) ; 5.45 (dq, 1H, J=15.8, 6.3Hz, H₈) ; 5.06-4.89 (m, 1H, H₃) ; 4.36 (dt, 1H, J=15.5, 3.3Hz, H₁₂) ; 3.88 (d, 1H, J=11.6Hz, H₂) ; 3.04-2.91 (m, 1H, H_{12'}) ; 1.88-1.73 (m, 3H, H₁₁, H₅) ; 1.70 (dd, 3H, J=6.4, 1.7Hz, H₉) ; 1.62-1.34 (m, 5H, H₁₀, H_{5'}, H₄)

NMR ¹³C (CDCl₃, 75MHz)

δ(ppm): 208.0 (C_Q, C₁) ; 134.4 (CH, C₇) ; 123.2 (CH, C₈) ; 81.5 (CH, C₃) ; 63.3 (CH, C₂) ; 52.9 (CH₂, C₁₂) ; 47.8 (C_Q, C₆) ; 35.8 (CH₂, C₁₀) ; 26.5 (CH₂, C₁₁) ; 23.3 (CH₂, C₅) ; 23.1 (CH₂, C₄) ; 18.2 (CH₃, C₉)

**5-ALLYL-5,6,7,8-TETRAHYDRO-3H-3,5-ETHANO[1,2,3]TRIAZOLO[1,5-A]
AZEPIN-4(3AH)-ONE **478****

**478****Procedure :**

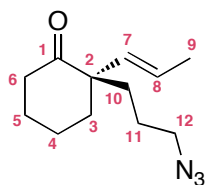
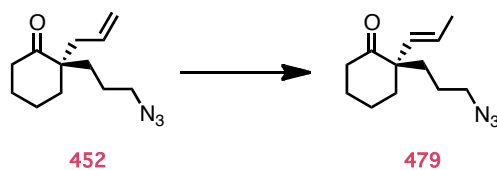
A solution of 6-allyl-6-(3-azidopropyl)cyclohex-2-en-1-one **446** (15.0 mg, 69.0 μmol , 1.00 equiv.) in toluene (750 μL) was heated at 120°C for 48h. After cooling to room temperature and solvent evaporation, the crude was purified by flash chromatography (Heptane/EtOAc 100/0 to 0/100). The triazoline **478** was obtained as a yellow oil (8.1 mg, 54%).

M.S. (ESI, m/z)192.1 $[\text{M}+\text{H}-\text{N}_2]^+$ 220.1 $[\text{M}+\text{H}]^+$ **H.R.M.S.** (ESI, m/z)Calculated for $\text{C}_{12}\text{H}_{18}\text{N}_3\text{O}^+$: 220.1450 ; Found: 220.1447**IR** $\nu(\text{cm}^{-1})$ 3072 ($\nu_{\text{CHsp}2}$) ; 2936 ($\nu_{\text{CHsp}3}$) ; 2853 ($\nu_{\text{CHsp}3}$) ; 1705 ($\nu_{\text{C=O}}$ ketone) ; 1639 ($\nu_{\text{C=C}}$) ; 1489 ($\nu_{\text{C-N}}$) ; 1439 ($\delta_{\text{CHsp}3}$) ; 1006 ($\delta_{\text{CHsp}2}$)**NMR ^1H** (CDCl_3 , 300MHz)

$\delta(\text{ppm})$: 5.74 (dddd, 1H, $J=16.7, 10.5, 8.4, 6.6\text{Hz}$, H_8) ; 5.14-4.96 (m, 2H, H_9) ; 5.01 (dt, 1H, $J=15.3, 3.3\text{Hz}$, H_3) ; 4.42 (td, 1H, $J=15.3, 3.3\text{Hz}$, H_{12}) ; 3.94 (d, 1H, $J=11.7\text{Hz}$, H_2) ; 3.09-2.96 (m, 1H, $\text{H}_{12'}$) ; 2.56 (dd, 1H, $J=13.6, 6.6\text{Hz}$, H_7) ; 2.11 (dd, 1H, $J=13.7, 8.4\text{Hz}$, H_7') ; 1.87-1.74 (m, 2H, H_{11}) ; 1.61-1.40 (m, 5H, $\text{H}_{10}, \text{H}_5, \text{H}_4$) ; 1.31-1.17 (m, 1H, $\text{H}_{10'}$)

NMR ^{13}C (CDCl_3 , 75MHz)

$\delta(\text{ppm})$: 205.2 (C_Q , C_1) ; 133.7 (CH, C_8) ; 118.8 (CH_2 , C_9) ; 81.9 (CH, C_3) ; 63.3 (CH, C_2) ; 48.0 (CH_2 , C_{12}) ; 43.8 (CH_2 , C_7) ; 43.7 (C_Q , C_6) ; 35.9 (CH_2 , C_5) ; 26.3 (CH_2 , C_{11}) ; 23.6 (CH_2 , C_{10}) ; 22.5 (CH_2 , C_4)

(E)-2-(3-AZIDOPROPYL)-2-(PROP-1-EN-1-YL)CYCLOHEXANONE 479**479****Procedure :**

A solution of allyl ketone **452** (40.0 mg, 0.182 mmol, 1.00 equiv.) and $\text{PdCl}_2(\text{CH}_3\text{CN})_2$ (4.70 mg, 18.0 μmol , 10.0 %mol) in toluene (364 μL) was sparged with argon for 10 min then heated to 80°C overnight. The reaction was cooled to room temperature, filtered through celite® (EtOAc eluent) and evaporated *in vacuo*. The residue was purified by flash chromatography on silica gel (heptane/EtOAc 100/0 to 80/20) to give the alkene **479** (31.0 mg, 78 %) as a colorless oil.

M.S. (ESI, m/z)

244.1 $[\text{M}+\text{Na}]^+$
276.2 $[\text{M}+\text{Na}+\text{MeOH}]^+$

H.R.M.S. (ESI, m/z)

Calculated for $\text{C}_{12}\text{H}_{19}\text{N}_3\text{ONa}^+$: 244.1426 ; Found: 244.1420

I.R $\nu(\text{cm}^{-1})$

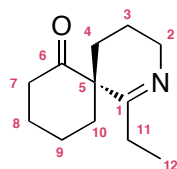
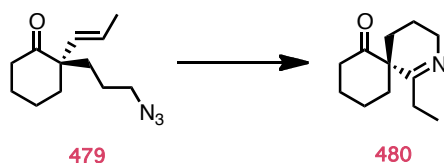
2933 (ν_{CHsp^3}) ; 2856 (ν_{CHsp^3}) ; 2087 (ν_{N_3}) ; 1705 ($\nu_{\text{C=O}}$ ketone) ; 1446 (δ_{CHsp^3}) ; 1392 (δ_{CHsp^3}) ; 968 (δ_{CHsp^2})

NMR ^1H (CDCl_3 , 300MHz)

$\delta(\text{ppm})$: 5.52-5.30 (m, 2H, H_7 , H_8) ; 3.24 (t, 2H, $J=6.4\text{Hz}$, H_{12}) ; 2.54 (ddd, 1H, $J=14.2$, 11.8, 5.7Hz, H_6) ; 2.27 (dtd, 1H, $J=14.4$, 4.3, 1.3Hz, H_6') ; 2.02-1.88 (m, 2H, H_5 , H_3) ; 1.78-1.44 (m, 11H, H_5' , H_4 , $\text{H}_{3'}$, H_9 , H_{10} , H_{11})

NMR ^{13}C (CDCl_3 , 75MHz)

$\delta(\text{ppm})$: 213.2 (C_O , C_1) ; 133.8 (CH, C_7) ; 127.2 (CH, C_8) ; 54.1 (C_O , C_2) ; 52.0 (CH_2 , C_{12}) ; 39.4 (CH_2 , C_6) ; 37.0 (CH_2 , C_3) ; 34.8 (CH_2 , C_{10}) ; 27.4 (CH_2 , C_5) ; 23.5 (CH_2 , C_{11}) ; 21.5 (CH_2 , C_4) ; 18.4 (CH_3 , C_9)

(R)-1-ETHYL-2-AZASPIRO[5.5]UNDEC-1-EN-7-ONE 480**480****Procedure :**

A solution of (*E*)-2-(3-azidopropyl)-2-(prop-1-en-1-yl)cyclohexanone **479** (15.0 mg, 0.068 mmol, 1.00 equiv.) in toluene (750 μ L) was heated at 120°C for 7 days. After cooling to room temperature and solvent evaporation, the crude was purified by flash chromatography (Heptane/EtOAc 100/0 to 0/100 and then DCM/EtOH/NH₄OH 90/9/1). The spiroimine **480** was obtained as a yellow oil (6.3 mg, 48%).

M.S. (ESI, m/z)

194.2 [M+H]⁺

H.R.M.S. (ESI, m/z)

Calculated for C₁₂H₂₀NO⁺: 194.1545; Found: 194.1537

I.R ν (cm⁻¹)

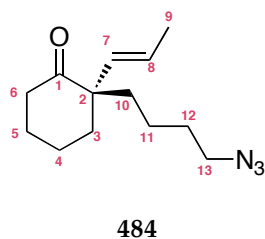
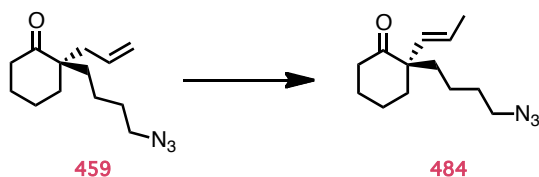
2928 (ν_{CHsp^3}); 2857 (ν_{CHsp^3}); 1702 ($\nu_{\text{C=O}}$); 1654 ($\nu_{\text{C=N}}$); 1450 (δ_{CHsp^3})

NMR ¹H (CDCl₃, 300MHz)

δ (ppm): 3.74-3.48 (m, 2H, H₂); 2.49 (q, 2H, J=7.3Hz, H₁₁); 2.45-2.33 (m, 2H, H₇); 2.26-2.11 (m, 1H); 1.96-1.63 (m, 3H); 1.61-1.36 (m, 6H); 1.10 (t, 3H, J=7.3Hz, H₁₂)

NMR ¹³C (CDCl₃, 75MHz)

δ (ppm): 49.4 (CH₂, C₂); 38.9 (CH₂, C₇); 36.8 (CH₂); 32.1 (CH₂); 30.5 (CH₂); 27.5 (CH₂); 23.4 (CH₂); 19.1 (CH₂); 8.4 (CH₃, C₁₂)

(*R,E*)-2-(4-AZIDOBUTYL)-2-(PROP-1-EN-1-YL)CYCLOHEXANONE 484**Procedure :**

A solution of (*R*)-2-allyl-2-(4-azidobutyl)cyclohexanone **459** (44.0 mg, 187 μ mol, 1.00 equiv.) and bis(acetonitrile)dichloropalladium (4.80 mg, 18.7 μ mol, 10.0 % mol) in degazed toluene (375 μ L) was heated at 85°C overnight. The reaction was cooled to room temperature, filtered through celite® (EtOAc eluent) and the solvent was evaporated *in vacuo*. The residue was purified by flash chromatography on silica gel (heptane/EtOAc 90/10) to afford the product **484** as a colorless oil (37.7 mg, 86 %).

M.S. (ESI, *m/z*)

208.2 [*M*+H-N₂]⁺

236.2 [*M*+H]⁺

H.R.M.S. (ESI, *m/z*)

Calculated for C₁₃H₂₂N₃O⁺: 236.1763 ; Found: 236.1753

I.R. ν (cm⁻¹)

2937 (ν_{CHsp3}) ; 2863 (ν_{CHsp3}) ; 2091 (ν_{N3}) ; 1705 ($\nu_{\text{C=O}}$ ketone) ; 1667 ($\nu_{\text{C=C}}$) ; 1449 (δ_{CHsp3}) ; 971 (δ_{CHsp2})

NMR ¹H (CDCl₃, 300MHz)

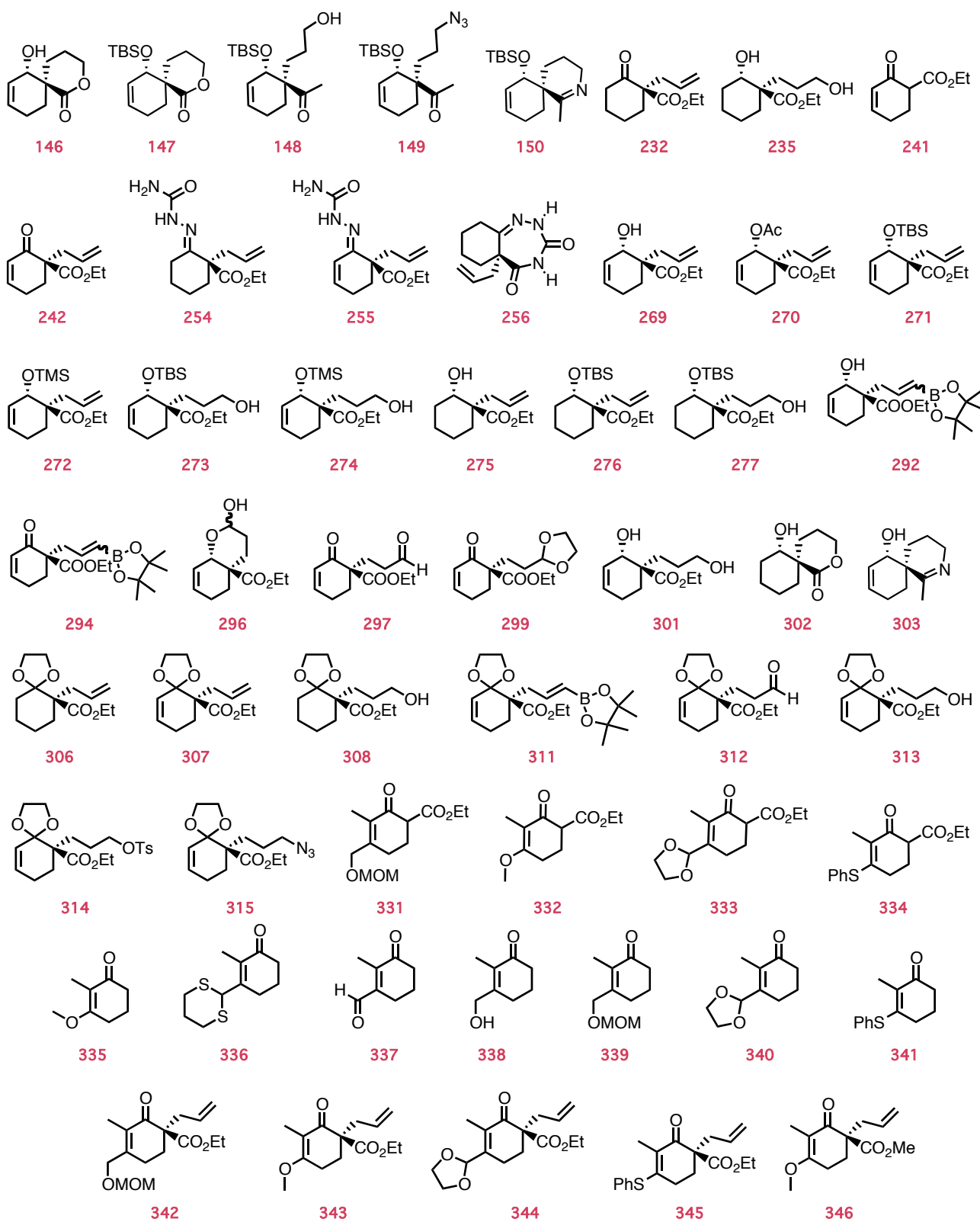
δ (ppm): 5.41 (dq, 1H, *J*=16.1, 1.5Hz, H₇) ; 5.29 (dq, 1H, *J*=16.2, 6.0Hz, H₈) ; 3.19 (t, 2H, *J*=6.9Hz, H₁₃) ; 2.45 (ddd, 1H, *J*=14.2, 11.5, 5.8Hz, H₆) ; 2.19 (dtd, 1H, *J*=14.4, 4.5, 1.4Hz, H_{6'}) ; 1.94-1.79 (m, 2H, H₅, H₃) ; 1.75-1.36 (m, 11H, H₁₂, H₁₀, H₉, H_{5'}, H₄, H_{3'}) ; 1.26-1.12 (m, 2H, H₁₁)

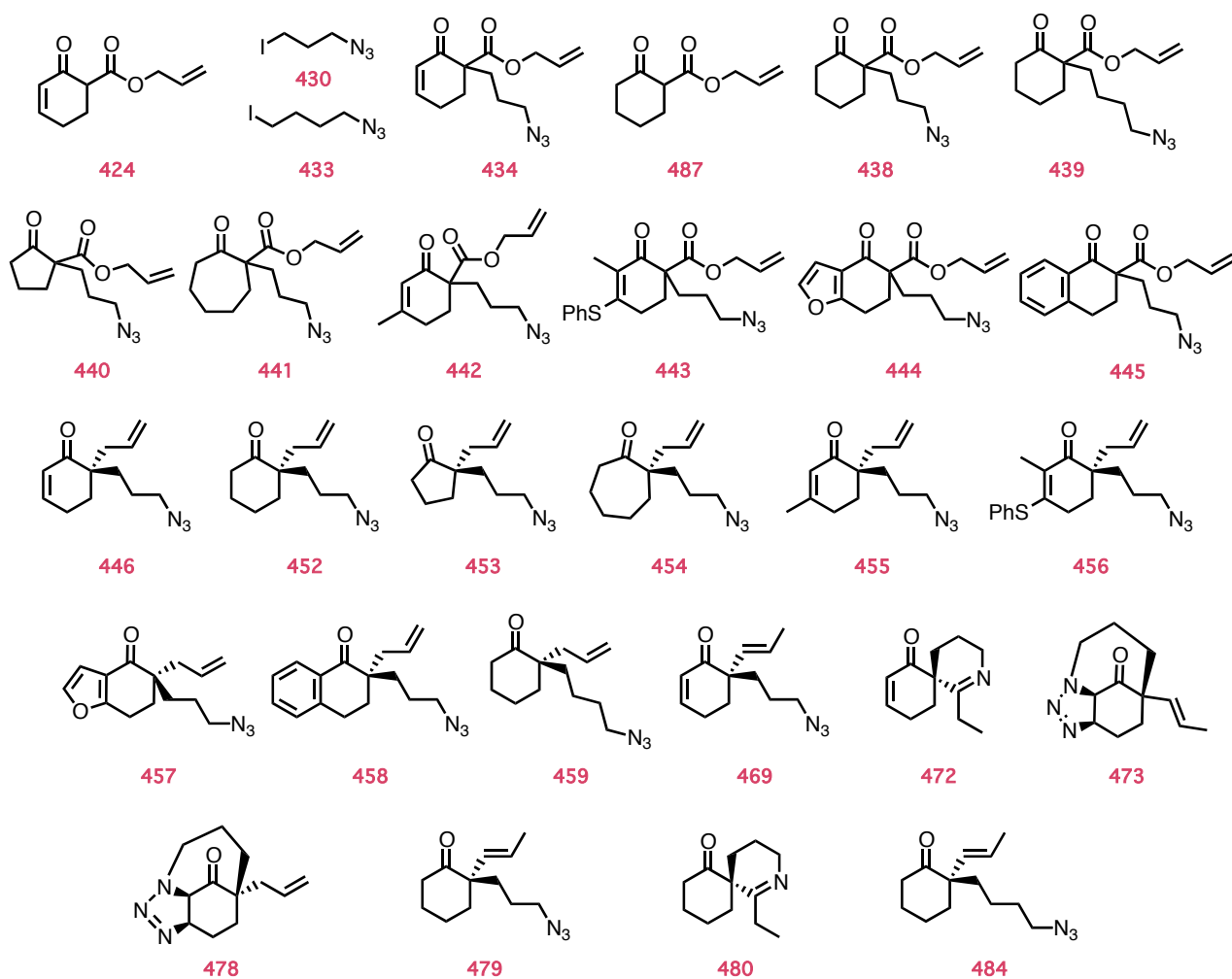
NMR ¹³C (CDCl₃, 75MHz)

δ (ppm): 213.5 (C_Q, C₁) ; 134.1 (CH, C₇) ; 126.7 (CH, C₈) ; 54.2 (C_Q, C₂) ; 51.3 (CH₂, C₁₃) ; 39.4 (CH₂, C₆) ; 37.2 (CH₂, C₁₀) ; 36.7 (CH₂, C₃) ; 29.5 (CH₂, C₁₂) ; 27.4 (CH₂, C₅) ; 21.6 (CH₂, C₄) ; 21.0 (CH₂, C₁₁) ; 18.4 (CH₃, C₉)

 α_D

-107.7 (*c* = 0.650, CHCl₃)

BILAN DES MOLÉCULES SYNTHÉTISÉES AU COURS DU CHAPITRE 3

BILAN DES MOLÉCULES SYNTHÉTISÉES AU COURS DU CHAPITRE 4

Références bibliographiques

Références bibliographiques

1. R. M. Wilson, S. J. Danishefsky, *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 8329-8351.
2. Blunt, J. W.; Copp, B. R.; Hu, W. P.; Munro, H. G.; Northcote, P. T.; Prinsep, M.R. *Nat. Prod. Rep.*, **2007**, *24*, 31.
3. (a) Bertrand, N.; Cathala, D.; Delahaie, S. *Les toxines marines sur le littoral français, état des connaissances*, ENSP, **2006**, http://fulltext.bdsp.ehesp.fr/Ensp/memoires/2007/ase_igs/atelier_3.pdf atelier (b) Fremy, J-M.; Lassus, P. *Toxines d'algues dans l'alimentation*, Ed. IFREMER, **2001**.
4. (a) Paz, B.; Daranas, A. H.; Norte, M.; Riobo, P.; Franco, J. M.; Fernandez, J. J. *Mar. drugs*, **2008**, *6*, 2, 73-102 (b) Ten-Hage, L.; Delaunay, N.; Pichon, V.; Couté, A.; Puisseux-Dao, S.; Turquet, J. *Toxicon*, **2000**, *38*, 1043-1054.
5. (a) Laycock, M. V.; Donovan, M. A.; Easy, D. J. *Toxicon*, **2010**, *55*, 597-605 (b) Wiese, M.; D'agostino, P. M.; Mihali, T. K.; Moffitt, M. C.; Neilan, B. A. *Mar. drugs*, **2010**, *8*, 2185-2211.
6. (a) Blanco, J.; Livramento, F.; Menezes-Rangel, I. *Toxicon*, **2010**, *55*, 541-546 (b) Pulido, O. M. *Mar. drugs*, **2008**, *6*, 180-219.
7. (a) Isbister, G. K.; Kiernan, M. C. *Lancet Neurology* **2005**, *4*, 219-28 (b) Rein, K. S.; Lynn, B.; Gawley, R. E.; Baden, D. G. *J. Org. Chem* **1994**, *59*, 2107-2113.
8. (a) T. McMahon, J. Silke, *Harmful Algae News* **1996**, *4*, 2. (b) M. J. Twiner, N. Rehmann, P. Hess, G. J. Doucette, *Mar. Drugs* **2008**, *6*, 39-72.
9. Friedman, M. A.; Fleming, L. E.; Fernandez, M.; Bienfang, P.; Schrank, K.; Dickey, R.; Bottein, M.-Y.; Backer, L.; Ayyar, R.; Weisman, R.; Watkins, S.; Granade, R.; Reich, A. *Mar. Drugs* **2008**, *6*, 456-479.
10. Saoudi, M.; Abdelmouli, A.; El Faki, A. *Toxin review* **2010**, *29*, 60-70.
11. Guéret, S. M.; Brimble, M. A. *Nat. Prod. Rep.* **2010**, *27*, 1350-1366.
12. Amzil, Z.; Sibat, M.; Royer, F.; Masson, N.; Abadie, E. *Mar. Drugs* **2007**, *5*, 168-179.
13. Seki, T.; Satake, M.; Mackenzie, L.; Kaspar, H.; Yasumoto, T. *Tetrahedron Lett.* **1995**, *36*, 7093-7096.
14. Stewart, M.; Blunt, J. W.; Munro, M. H. G.; Robinson, W. T.; Hannah, D. J. *Tetrahedron Lett.* **1997**, *38*, 4889-4890.
15. (a) Miles, C. O.; Wilkins, A. L.; Stirling, D. L.; MacKenzie, A. L. *J. Agric. Food Chem.* **2000**, *48*, 1373-1376 (b) Miles, C. O.; Wilkins, A. L.; Stirling, D. L.; MacKenzie, A. L. *J. Agric. Food Chem.* **2003**, *51*, 4838-4840.
16. Van Wagoner, R. M.; Misner, I.; Tomas, C. R.; Wright, J. L. C. *Tetrahedron Lett.* **2011**, doi:10.1016/j.tetlet.2011.05.137.
17. Munday, R.; Towers, N. R.; Mackenzie, L.; Beuzenberg, V.; Holland, P. T.; Miles, C.O. *Toxicon*, **2004**, *44*, 173-178.
18. R. Biré, Contribution à l'appréciation du risque pour l'Homme lié à la présence de phycotoxines neurologiques dans les coquillages - Mise en place d'un système de management de la qualité en recherche PhD Thesis, University of Paris VII 278 pp. **2004**.
19. Cembela, A. D.; Lewis, N. I.; Quilliam, M. A. *Phycologia* **2000**, *39*, 67-74.
20. Hu, T. M.; Curtis, J. M.; Oshima, Y.; Quilliam, M. A.; Walter, J. A.; Watsonwright, W. M.; Wright, J. L. C. *Chem. Commun.* **1995**, 2159-2161.
21. (a) Falk, M.; Burton, I. W.; Hu, T.; Walter, J. A.; Wright, J. L. C. *Tetrahedron* **2001**, *57*, 8659-8665 (b) Hu, T.; Burton, I. W.; Cembella, A. D.; Curtis, J. M.; Quilliam, M. A.; Walter, J. A.; Wright, L. C. *J. Nat. Prod.* **2001**, *64*, 308-312.
22. Ciminiello, P.; Catalanotti, B.; Dell'Aversano, C.; Fattorusso, C.; Forino, M.; Grauso, L.; Leo, A.; Tartaglione, L. *Org. Biomol. Chem.* **2009**, *7*, 3674-3681
23. Hu, T. M.; Curtis, J. M.; Walter, J. A.; Wright, J. L. C. *Tetrahedron Lett.* **1996**, *37*, 7671-7674.
24. MacKinnon, S. L.; Walter, J. A.; Quilliam, M. A.; Cembella, A. D.; LeBlanc, P.; Burton, I. W.; Hardstaff, W. R.; Lewis, N. I. *J. Nat. Prod.* **2006**, *69*, 983-987.
25. Aasen, J.; MacKinnon, S. L.; LeBlanc, P.; Walter, J. A.; Hovgaard, P.; Aune, T.; Quilliam, M. A. *Chem. Res. Toxicol.* **2005**, *18*, 509-515.
26. Roach, J. S.; LeBlanc, P.; Lewis, N. I.; Munday, R.; Quilliam, M. A.; MacKinnon, S. L. *J. Nat. Prod.* **2009**, *72*, 1237-1240.
27. L. M. Botana, In *Seafood And Freshwater Toxins: Pharmacology, Physiology And Detection*, CRC Press Inc, **2008**.
28. Uemura, D.; Chou, T.; Haino, T.; Nagatsu, A.; Fukuzawa, S.; Zheng, S.-Z.; Chen, H.-S. *J. Am. Chem. Soc.*, **1995**, *117*, 1155-1156.
29. Chou, T.; Haino, T.; Kuramoto, M.; Uemura, D. *Tetrahedron Lett.*, **1996**, *37*, 4027-4030.
30. Takada, N.; Umemura, N.; Suenaga, K.; Chou, T.; Nagatsu, A.; Haino, T.; Yamada, K.; Uemura, D. *Tetrahedron Lett.*, **2001**, *42*, 3491-3494.
31. Takada, N.; Umemura, N.; Suenaga, K.; Uemura, D. *Tetrahedron Lett.*, **2001**, *42*, 3495-3497.
32. Matsuura, F.; Peters, R.; Anada, M.; Harried, S. S.; Hao, J.; Kishi, Y. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 7463-7465.
33. Hao, J. L.; Matsuura, F.; Kishi, Y.; Kita, M.; Uemura, D.; Asai, N.; Iwashita, T. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 7742-7743.

34. Marine Biotoxins in Shellfish - Summary on regulated marine biotoxins *The EFSA Journal*, **2009**, 1306, 1-23.
35. (a) Yasumoto, T.; Hashimoto, Y.; Bagnis, R.; Randall, J. E.; Banner, A. H.; *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.* **1971**, 37, 724-734. (b) Kat, M. *In Toxic Dinoflagellate Blooms*; Taylor, D. L.; Seliger, H. H.; Eds.; Elsevier : New York, NY, USA, **1979**, 215-220.
36. Version du 5 juin 2009 disponible sur internet (<http://www.aesan.msp.es/en/CRLMB/web/home.shtml>)
37. Gonzales, J. C.; Leira, F.; Fontal, O. I.; Vieytes, M.R.; Arevalo, F. F.; Vieites, J. M.; Bermudez-Puente, M.; Muniz, S.; Salgado, C.; Yasumoto, T.; Botana, L. M. *Anal. Chim. Acta.* **2002**, 466, 233-246.
38. Fonfría, E. S.; Vilariño, N.; Espiña, B.; Louzao, M. C.; Álvarez, M.; Molgó, J.; Aráoz, R.; Botana, L. M. *Anal. Chim. Acta.* **2010**, 657, 75-82.
39. Kreuzer, M.; O'Sullivan, C.; Guibault, G. G. *Anal. Chem.* **1999**, 71, 4198.
40. Chu, F. S.; Hsu, K. H.; Huang, X.; Barrett, R.; Allison, C. J. *Agric. Food Chem.* **1996**, 44, 4043.
41. Yu, F.-Y.; Liu, B.-H.; Wu, T.-S.; Chi, T.-F.; Su, M.-C. *J. Agric. Food Chem.* **2004**, 52, 5334.
42. Baden, D. G.; Melinek, R.; Sechet, V.; Trainer, V. L.; Schlutz, D. R.; Rein, K. S.; Tomas, C. R.; Delgado, J.; Hale, L. J. *AOAC Int.* **1995**, 78, 499.
43. Oguri, H.; Hiram, M.; Tsumuraya, T.; Fujii, I.; Maruyama, M.; Uehara, Y.; Nagumo, Y. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, 125, 7608.
44. Garthwaite, I.; Ross, K.M.; Miles, C. O.; Briggs, L. R.; Towers, N. R.; Borrell, T.; Busby, P. J. *AOAC Int.* **2001**, 84, 1643.
45. (a) DSP-Check® (<http://www.sceti.co.jp/english/index.asp>) (b) OA-Check® (<http://www.mitsubishichemical.com/index.html>) (c) Rougier Bio-Tech® (<http://www.erfabiotech.com/index.html>)
46. Ridascreen® (<http://www.r-biopharmhome.com/index.html>)
47. Biosense® (<http://biosense.no/index.asp>)
48. Lee, J. S.; Yangi, T.; Kenma, T.; Yasumoto, T. *Agric. Biol. Chem.* **1987**, 51, 877-881.
49. AOAC, 18^{ème} édition, méthode officielle 2005.06, Gaithersburg, **2005**.
50. AOAC, 18^{ème} édition, méthode officielle 991.26, Gaithersburg, **2005**, 81-82.
51. Sleno, L.; Volmer, D. A. *Anal. Chem.* **2005**, 77, 1509-1517.
52. Sleno, L.; Windust, A.; Volmer, D. A. *Anal. Bioanal. Chem.* **2004**, 378, 969-976.
53. McNabb, P.; Selwood, A. I.; Holland, P. T.; *J. AOAC Int.* **2005**, 88, 761-772.
54. Stobo, L. A.; Lacaze, J. P. C. L.; Scott, A. C.; Gallacher, S.; Smith, E. A.; Quilliam, M. A. *J. AOAC Int.* **2005**, 88, 1371-1382.
55. Fux, E.; McMillan, D.; Bire, R.; Hess, P. *J. Chromatogr. A* **2007**, 1157, 273-280.
56. Gerssen, A.; Mulder, P. P. J.; McElhinney, M. A.; De Boer, J. *J. Chromatogr. A* **2009**, 1216, 1421-1430.
57. Stirling, D. J. *N. Z. J. Mar. Freshwater Res.* **2001**, 35, 851-857.
58. Vilariño, N.; Fonfría, E. S.; Molgó, J.; Aráoz, R.; Botana, L. M. *Anal. Chem.* **2009**, 81, 2708-2714.
59. Munday, R.; Towers, N. R.; Mackenzie, L.; Beuzenberg, V.; Holland, P. T.; Miles, C. O. *Toxicon* **2004**, 44, 173-178.
60. Gill, S.; Murphy, M.; Clausen, J.; Richard, D.; Quilliam, M.; MacKinnon, S.; LaBlanc, P.; Mueller, R.; Pulido, O. *Neurotoxicology*, **2003**, 24, 593-604.
61. Araoz, R.; Servent, D.; Molgó, J.; Iorga, B. I.; Fruchart-Gaillard, C.; Benoit, E.; Gu, Z.; Stivala, C.; Zakarian, A. *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, DOI:10.1021/ja201254c.
62. R. Kharrat, D. Servent, E. Girard, G. Ouanounou, M. Amar, R. Marrouchi, E. Benoit, J. Molgo, *J. Neurochem.* **2008**, 107, 952-963.
63. Langley, J. N. *J. Physiol.* **1907**, 36, 347-384.
64. Dale, H. H. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **1914**, 6, 147-190.
65. Halliwell, R. F. *Trends Pharmacol. Sci.* **2007**, 28, 214-219.
66. Feldberg, W.; Fessard, A. *J. Physiol.* **1942**, 101, 200-216.
67. Changeux, J.-P.; Kasai, M.; Lee, C.-Y. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **1970**, 67, 1241-1247.
68. Hamill, O. P.; Marty, A.; Neher, E. *Pflug Arch* **1981**, 391, 85-100.
69. Mishina, M. *et al. Nature* **1985**, 318, 538-543.
70. Miyazawa, A.; Fujiyoshi, Y.; Stowell, M.; Unwin, N. *J. Mol. Biol.* **1999**, 288, 765-786.
71. Sine, S. M.; Taylor, P. *J. Biol. Chem.* **1981**, 256, 6692-6699.
72. Unwin, N. *J. Mol. Biol.* **2005**, 346, 967-989.
73. Gotti, C.; Clementi, F.; *Progress in Neurobiology* **2004**, 74, 363-396.
74. (a) Monod, J.; Wyman, J.; Changeux, J. P. *J. Mol. Biol.* **1965**, 12, 88-118 (b) Changeux, J. P.; Edelstein, S. J. *Science* **2005**, 308, 1424-1428.
75. Katz, B.; Thesleff, S. *J. Physiol.* **1957**, 138, 63-80.
76. Heidmann, T.; Changeux, J. P. *Biochem Biophys Res* **1980**, 97, 889-896.
77. Jackson, M. B. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **1984**, 81, 3901-3904.
78. Grossman, C.; Auerbach, A. *J. Gen. Physiol.* **2000**, 115, 621-635.
79. Law, R. J.; Henchman, R. H.; McCammon, A. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **2005**, 102, 6813-6818.
80. Brejc, K.; Van Dijk, W. J.; Klaassen, R. V.; Schuurmans, M.; Van Der Oost, J.; Smit, A. B.; Sixma, T. K. *Nature* **2001**, 411, 269-276.

81. Smit, A. B.; Syed, N. I.; Schapp, D.; van Minnen, J.; Klumperman, J.; Kits, K. S.; Lodder, H.; van der Schors, R. C.; van Elk, R.; Sorgedragter, B.; Brejc, K.; Sixma, T. K.; Geraerts, W. P. *Nature* **2001**, *411*, 261-268.
82. Le Novère, N.; Grutter, T.; Changeux, J. P. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2002**, *99*, 3210-3215.
83. Dutertre, S.; Lewis, R. J. *Eur. J. Biochem.* **2004**, *271*, 2327-2334.
84. Celie, P. H.; van Rossum-Fikkert, S. E.; van Dijk, W. J.; Brejc, K.; Smit, A. B.; Sixma, T. K. *Neuron* **2004**, *41*, 907-914.
85. Nirthanan, S.; Gwee, M. C. E. *J. Pharmacol. Sci.* **2004**, *94*, 1-17.
86. Kharrat, R.; Servent, D.; Giraig, E.; Ouanounou, G.; Amar, M.; Marrouchi, R.; Benoit, E.; Molgó, J. *J. Neurochem.* **2008**, *107*, 952-963.
87. Jackson, M. B. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **1984**, *81*, 3901-3904.
88. La Xénope est une grenouille.
89. Bourne, Y.; Radic, Z.; Araújo, R.; Talley, T. T.; Benoit, E.; Servent, D.; Taylor, P.; Molgó, J.; Marchot, P. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **2010**, *107*, 6076-6081.
90. Les cellules HEK (Human Embryonic Kidney) sont des cellules mutées par l'ADN du type de récepteur souhaité.
91. Hibbs, R. E.; Sulzenbacher, J. S.; Talley, T. T.; Conrod, S.; Kem, W. R.; Taylor, P.; Marchot, P.; Bourne, Y. *The EMBO Journal* **2009**, *28*, 3040-3051.
92. Araújo, R.; Chabaud, L.; Guillou, C.; Molgó, J.; Iorga, B. I. *Rencontres en Toxinologie, édition de la SFET*, **2010**, 109-114.
93. (a) Moore, B. S. *Nat. Prod. Rep.* **2005**, *22*, 580-593 (b) Moore, B. S. *Nat. Prod. Rep.* **1999**, *16*, 653-674.
94. MacKinnon, S. L.; Cembella, A. D.; Burton, I. W.; Lewis, N.; LeBlanc, P.; Walter, J. A. *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 8724-8731.
95. (a) Trzoss, M.; Brimble, M. A. *Synlett* **2003**, *13*, 2042-2046. (b) Brimble, M. A.; Trzoss, M. *Tetrahedron* **2004**, *60*, 5613-5622.
96. Carpino, L. A.; Tsao, J. H.; Ringsdorf, H.; Fell, E.; Hettrich, G. *Chem. Commun.* **1978**, 358-359.
97. Grieco, P. A.; Kaufman, M. D. *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 6041-6048.
98. Yanchuan, C. Z.; Furkert, D. P.; Guéret, S. M.; Lombard, F.; Brimble, M. A. *Tetrahedron Lett.* **2011**, *52*, 4896-4898.
99. Johannes, J. W.; Wenglow, S.; Kishi, Y. *Org. Lett.* **2005**, *7*, 3997-4000.
100. Northrup, A. B.; MacMillan, D. W. C. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 2458-2460.
101. Dans les réactions de Diels-Alder avec des diénophiles de type acrylate, l'approche favorisée est généralement de type *endo* dues à des interactions secondaires avec le diène qui stabilisent l'état de transition.
102. Exemple pionnier de la réaction de Diels-Alder dans l'eau : Rideout, D. C.; Breslow, R. *J. Am. Chem. Soc.* **1980**, *102*, 7816-7817.
103. Blanchette, M. A.; Choy, W.; Davis, J. T.; Essensfeld, A. P.; Masamune, S.; Roush, W. R.; Sakai, T. *Tetrahedron Lett.* **1984**, *25*, 2183-2186.
104. Tsujimoto, T.; Ishihara, J.; Horie, M.; Murai, A. *Synlett* **2002**, 399-402.
105. Owens, T. D.; Hollander, F. J.; Oliver, A. G.; Ellman, J. A. *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 1539-1540.
106. (a) White, J. D.; Wang, G. Q.; Quaranta, L. *Org. Lett.* **2003**, *5*, 4983-4986. (b) White, J. D.; Quaranta, L.; Wang, G. Q. *J. Org. Chem.* **2007**, *72*, 1717-1728.
107. Meldrum, A. N. *J. Chem. Soc.*, **1908**, *93*, 598-601.
108. Kong, K.; Romo, D.; Lee, C. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2009**, *48*, 7402-7405.
109. Kong, K.; Romo, D. *Org. Lett.* **2006**, *8*, 2909-2912.
110. Kong, K.; Moussa, Z.; Romo, D. *Org. Lett.* **2005**, *7*, 5127-5130.
111. La même approche a été publiée par Brimble mais avec des résultats très modestes : Brimble, M. A.; Crimmins, D.; Trzoss, M. *Arkivoc* **2005**, 39-52.
112. Yang, J. Y.; Cohn, S. T.; Romo, D. *Org. Lett.* **2000**, *2*, 763-766.
113. Evans, D. A.; Miller, S. J.; Lectka, T.; von Matt, P. *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 7559-7573.
114. (a) Zhang, H. X.; Guibé, F.; Balavoine, G. *J. Org. Chem.* **1983**, *48*, 4155-4156. (b) Semmelhack, M. F.; Hooley, R. J. *Tetrahedron Lett.* **2003**, *44*, 5737-5739.
115. Corey, E. J.; Helal, C. J. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1998**, *37*, 1986-2012.
116. Kong, K.; Romo, D. *Org. Lett.* **2006**, *8*, 2909-2912.
117. Stivala, C. E.; Zakarian, A. *Org. Lett.* **2009**, *11*, 839-842.
118. (a) Shirai, R.; Aoki, K.; Sato, D.; Kim, H. D.; Murakata, M.; Yasukata, T.; Koga, K. *Chem. Pharm. Bull.* **1994**, *42*, 690-693. (b) Shirai, R.; Sato, D.; Aoki, K.; Tanaka, M.; Kawasaki, H.; Koga, K. *Tetrahedron* **1997**, *53*, 5963-5972.
119. Qin, Y.-C.; Stivala, C. E.; Zakarian, A. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46*, 7466-7469.
120. Guéret, S. M.; O'Connor, P. D.; Brimble, M. A. *Org. Lett.* **2009**, *11*, 963-966.
121. Voorhees, V.; Adams, R. *J. Am. Chem. Soc.* **1922**, *44*, 1397-1405.
122. Guéret, S. M.; Furkert, D. P.; Brimble, M. A. *Org. Lett.* **2010**, *12*, 5226-5229.
123. McCauley, J. A.; Nagasawa, K.; Lander, P. A.; Mischke, S. G.; Semones, M. A.; Kishi, Y. *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 7647-7648.
124. Pour une revue sur la réaction de Diels-Alder comme réaction biosynthétique, voir : Stocking, E. M.; Williams, R. M. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2003**, *42*, 3078-3115.

125. Matsuura, F.; Peters, R.; Anada, M.; Harried, S. S.; Hao, J.; Kishi, Y. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 7463-7465.
126. (a) Hoffmann, H. M. R.; Rabe, J. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1983**, *22*, 795-796. (b) Jung, M. E.; Zimmerman, C. N. *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 7813-7814.
127. Pour une revue sur la réaction de Diels-Alder intramoléculaire appliquée à la synthèse de produits naturels, voir : Juhl, M.; Tanner, D. *Chem. Soc. Rev.* **2009**, *38*, 2983-2992.
128. Pour une revue sur l'utilisation de la réaction de Diels-Alder en synthèse totale, voir : Nicolaou, K. C.; Snyder, S. A.; Montagnon, T.; Vassilikogiannakis, G. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2002**, *41*, 1668-1698.
129. (a) Pelc, M. J.; Zakarian, A. *Org. Lett.* **2005**, *7*, 1629-1631. (b) Pelc, M. J.; Zakarian, A. *Tetrahedron Lett.* **2006**, *47*, 7519-7523.
130. Beaumont, S.; Ilardi, E. A.; Tappin, N. D. C.; Zakarian, A. *Eur. J. Org. Chem.* **2010**, 5743-5765.
131. Pour une revue très intéressante sur les réarrangements sigmatropiques-[2,3], voir : Nakai, T.; Mikami, K. *Chem. Rev.* **1986**, *86*, 885-902.
132. Claisen, L. *Chem. Ber.* **1912**, *45*, 3157-3166.
133. Pour une revue sur le réarrangement de Claisen et ses variantes, voir : (a) Castro, A. M. M. *Chem. Rev.* **2004**, *104*, 2939-3002. (b) Ilardi, E. A.; Stivala, C. E.; Zakarian, A. *Chem. Soc. Rev.* **2009**, *38*, 3133-3148.
134. Lipshutz, B. H.; Wilhelm, R. S.; Kozlowski, J. A. *Tetrahedron* **1984**, *40*, 5005-5038.
135. Pour une revue sur l'utilisation des cuprates, voir : Lipshutz, B. H. *Synthesis* **1987**, 325-341.
136. Résultats non publiés par Pelc, M. *Université de l'état de Floride*, **2005**.
137. Corey, E. J.; Boaz, N. W. *Tetrahedron Lett.* **1984**, *25*, 3063-3066.
138. Stivala, C. E.; Zakarian, A. *Tetrahedron Lett.* **2007**, *48*, 6845-6848.
139. Stivala, C. E.; Zakarian, A. *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 3774-3776.
140. Nakamura, S.; Kikitchi, F.; Hashimoto, S. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2008**, *47*, 7091-7094.
141. Trost, B. M.; Toste, F. D. *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 9728-9729.
142. Pour un exemple de macrocyclisation par couplage d'énynes, voir : Trost, B. M.; Harrington, P. E. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 5028-5029.
143. (a) Roush, W. R.; Brown, B. B. *J. Org. Chem.* **1992**, *57*, 3380-3387. (b) Qi, J.; Roush, W. R. *Org. Lett.* **2006**, *8*, 2795-2798.
144. Sakamoto, S.; Sakazaki, H.; Hagiwara, K.; Kamada, K.; Ishii, K.; Noda, T.; Inoue, M.; Hiram, M. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 6505-6510.
145. (a) Nitta, A.; Ishiwata, A.; Noda, T.; Hiram, M. *Synlett* **1999**, 695-696. (b) Wang, J.; Sakamoto, S.; Kamada, K.; Nitta, A.; Noda, T.; Oguri, H.; Hiram, M. *Synlett* **2003**, 891-893.
146. Staudinger, H.; Meyer, J. *Helv. Chim. Acta* **1919**, *2*, 635-646.
147. Marcoux, D.; Bindschädler, P.; Speed, A. W. H.; Chiu, A.; Pero, J. E.; Borg, G. A.; Evans, D. A. *Org. Lett.* **2011**, DOI: 10.1021/ol201448h.
148. (a) Schultz, A. G.; Sundararaman, P. *Tetrahedron Lett.* **1984**, *25*, 4591-4594. (b) Schultz, A. G.; Sundararaman, P.; Macielag, M.; Lavieri, F. P.; Welch, M. *Tetrahedron Lett.* **1985**, *26*, 4575-4578.
149. Toumieux, S.; Beniazza, R.; Desvergnès, V.; Araújo, R.; Molgó, J.; Landais, Y. *Org. Biomol. Chem.* **2011**, *9*, 3726-3732.
150. (a) Beckwith, A. L. J.; Schiesser, C. H. *Tetrahedron Lett.* **1985**, *26*, 373-376.
151. (a) Villar, F.; Kolly-Kovac, T.; Equey, O.; Renaud, P. *Chem. Eur. J.* **2003**, *9*, 1566-1577. (b) Corminboeuf, O.; Renaud, P.; Schiesser, C. H. *Chem.-Eur. J.* **2003**, *9*, 1578-1584.
152. Chabaud, L.; Jousseau, T.; Retailleau, P.; Guillou, C. *Eur. J. Org. Chem.* **2010**, *28*, 5471-5481.
153. Tsuji, J.; Takahashi, H.; Morikawa, M. *Tetrahedron Lett.* **1965**, *49*, 4387-4388.
154. Trost, B. M.; Dietsche, T. J. *J. Am. Chem. Soc.* **1973**, 8200-8201.
155. (a) Atkins, K. E.; Walker, W. E.; Malyik, R. M. *Tetrahedron Lett.* **1970**, 3821-3824. (b) Trost, B. M.; Strege, P. E. *J. Am. Chem. Soc.* **1976**, 1649-1651. (c) Trost, B. M.; Crawley, M. L. *Chem. Rev.* **2003**, *103*, 2921-2943.
156. Trost, B. M.; Fullerton, J. F. *J. Am. Chem. Soc.* **1972**, 292-294.
157. Trost, B. M. *Pure Appl. Chem.* **1981**, *53*, 2357-2370.
158. Tsuji, J. *Pure Appl. Chem.* **1982**, *54*, 197-206.
159. Trost, B. M.; Schroeder, G. M. *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, 6759-6760.
160. Sheffy, F. K.; Stille, M. J. *J. Am. Chem. Soc.* **1983**, *105*, 7173-7175.
161. Trost, B. M.; Schmuff, N. R.; Miller, M. J. *J. Am. Chem. Soc.* **1980**, *102*, 5979-5981.
162. Tsuji, J.; Shimizu, I.; Minami, I.; Ohashi, K.; Sugiura, T. *J. Org. Chem.* **1985**, *50*, 1523-1529.
163. Tsuji, J. *Tetrahedron* **1986**, *42*, 4361-4401.
164. Tanigawa, Y.; Nishimura, K.; Kawasaki, A.; Murahashi, S. *Tetrahedron Lett.* **1982**, *23*, 5549-5552.
165. (a) Murahashi, S.; Tanigawa, Y.; Imada, Y.; Taniguchi, Y. *Tetrahedron Lett.* **1986**, *27*, 227-230. (b) Tanikaga, R.; Jun, T. X.; Kaji, A. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. I* **1990**, 1185-1191.
166. (a) Tsuji, J.; Sakai, H.; Nagashima, H.; Shimizu, I. *Tetrahedron Lett.* **1981**, *22*, 131-134. (b) Larock, R. C.; Harrison, L. W.; Hsu, M. H. *J. Org. Chem.* **1984**, *49*, 3662-3664.
167. Julia, M.; Nei, M.; Saussime, L. *J. Organomet. Chem.* **1979**, *181*, C17-C20.

168. Akermarck, B.; Nystrom, J. E.; Rein, T.; Bäckvall, J. E.; Helquist, P.; Aslanian, R. *Tetrahedron Lett.* **1984**, *25*, 5719-5722.
169. Trost, B. M.; Yashida, J.; Lautens, M. *J. Am. Chem. Soc.* **1983**, *105*, 4494-4496.
170. Miyaoura, N.; Yano, T.; Suzuki, A. *Tetrahedron Lett.* **1980**, *21*, 2865-2868.
171. Tsuji, J.; Minami, I.; Shimizu, I. *Synthesis* **1986**, 623-627.
172. (a) Zhu, L.; Wehmeyer, R. M.; Rieke, R. D. *J. Org. Chem.* **1991**, *56*, 1445-1453. (b) Hayashi, T.; Konishi, M.; Yokota, K.; Kumada, M. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1981**, 313-314. (c) Temple, J. S.; Schwartz, J. *J. Am. Chem. Soc.* **1980**, *102*, 7381-7382. (d) Temple, J. S.; Riediker, M.; Schwartz, J. *J. Am. Chem. Soc.* **1982**, *104*, 1310-1315. (e) Trost, B. M.; Keinan, E. *Tetrahedron Lett.* **1980**, *21*, 2595-2598.
173. (a) Frost, C. G.; Howarth, J.; Williams, M. J. *Tetrahedron: Asymmetry*, **1992**, *3*, 1089-1122. (b) Kürti, L.; Czako, B. *Strategic applications of named reactions in organic synthesis*, Elsevier, **2005**, 459-460. (c) Trost, B. M.; Machacek, M. R.; Aponick, A. *Acc. Chem. Res.* **2006**, *39*, 747-760.
174. (a) Hayashi, T.; Hagihara, T.; Konishi, M.; Kumada, M. *J. Am. Chem. Soc.* **1983**, *105*, 7767-7768. (b) Mackenzie, P. B.; Whelan, J.; Bosnich, B. *J. Am. Chem. Soc.* **1985**, *107*, 2046-2054.
175. Godleski, S. A.; Gundlach, K. B.; Ho, H. Y.; Keinan, E.; Frolow, F. *Organometallics*, **1984**, *3*, 21-28.
176. Fiaud, J.-C.; Legros, J.-Y. *J. Org. Chem.* **1987**, *52*, 1907-1911.
177. Trost, B. M. *Chem. Rev.* **1996**, *96*, 395-422.
178. Graening, T.; Schmalz, H.-G. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, *42*, 2580-2584.
179. Trost, B. M. *Acc. Chem. Res.* **1996**, *29*, 355-364.
180. Lu, Z.; Ma, S. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46*, 2-42.
181. (a) Trost, B. M.; Breit, B.; Peukert, S.; Zambrano, J.; Ziller, J. W. A. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1995**, *34*, 2386-2388. (b) Lloyd-Jones, G. C.; Stephen, S. C.; Fairlamb, I. J. S.; Martorell, A.; Dominguez, B.; Tomlin, P. M.; Murray, M.; Fernandez, J. M.; Jeffery, J. C.; Riis-Johannessen, T.; Guereziz, T. *Pure Appl. Chem.* **2004**, *76*, 589-601.
182. Trost, B. M.; Schroeder, G. M. *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 6759-6760.
183. Trost, B. M.; Pisso-Soldermann, C.; Chen, I.; Schroeder, G. M. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 4480-4481.
184. Wellington, K. D.; Cambie, R. C.; Rutledge, P. S.; Berquist, P. R. *J. Nat. Prod.* **2000**, *63*, 79-85.
185. Trost, B. M.; Dong, L.; Schroeder, G. M. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 2844-2845.
186. Trost, B. M.; Tang, W. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 8744-8745.
187. Trost, B. M.; Radinov, R.; Grenzer, E. M. *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 7879-7880.
188. Trost, B. M.; Shi, Y. *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 9421-9438.
189. Aburel, P. S.; Rømming, C.; Ma, K.; Undheim, K. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **2001**, 1458-1472.
190. Trost, B. M.; Schroeder, G. M. *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 6759-6760.
191. Trost, B. M.; Pissot-Soldermann, C.; Chen, I.; Schroeder, G. M. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 4480-4481.
192. Mohr, J. T.; Behenna, D. C.; Harned, A. M.; Stoltz, B. M. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 6924-6927.
193. Attanasi, O. A.; De Crescentini, L.; Favi, G.; Filippone, P.; Golobic, A.; Lillini, S.; Mantellini, F. *Synlett* **2006**, *17*, 2735-2738.
194. (a) Raucher, S.; Gustavson, L. M.; Stenkamp, R. E. *J. Org. Chem.* **1987**, *52*, 2760-2762. (b) Fortunato, J. M.; Ganem, B. *J. Org. Chem.* **1976**, *41*, 2194-2200.
195. Brown, H. C.; Subba Rao, B. C. *J. Am. Chem. Soc.* **1956**, *78*, 5694-5695.
196. Brown, H. C.; Subba Rao, B. C. *J. Org. Chem.* **1957**, *22*, 1136-1137.
197. Liu, X.; Cook, J. M. *Org. Lett.* **2001**, *3*, 4023-4026.
198. Hara, S.; Guan, T.; Yoshida, M. *Org. Lett.* **2006**, *8*, 2639-2641.
199. Cheng, Q.; Kiyota, H.; Yamaguchi, M.; Horiguchi, T.; Oritani, T. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2003**, *13*, 1075-1077.
200. Fraga, C. A. M.; Teixeira, L. H. P.; S. Menezes, C. M.; Sant'Anna, C. M. R.; Ramos, M. C. K. V.; Aquiro Neto, F. R.; Barreiro, E. J. *Tetrahedron* **2004**, *60*, 2745-2755.
201. (a) Zhou, Q.; Snider, B. B. *J. Org. Chem.* **2008**, *73*, 8049-8056. (b) Castells, J.; Palau, J. *Chem. Soc.* **1964**, 4938-4941.
202. Kabalka, G. W.; Maddox, J. T.; Shoup, T.; Bowers, K. R. *Org. Synth.* **1998**, *9*, 522.
203. Ando, K.; Yasuda, K.; Tomioka, K.; Koga, K. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1994**, 277-282.
204. Abiko, A. *Org. Synth.* **2004**, *10*, 273.
205. Luo, Z.; Peplowski, K.; Sulikowski, G. A. *Org. Lett.* **2007**, *9*, 5051-5054.
206. Jahn, U.; Hartmann, P.; Kaasalainen, E. *Org. Lett.* **2003**, *6*, 257-260.
207. Trost, B. M.; Schroeder, G. M. *Chem. Eur. J.* **2005**, *11*, 174-184.
208. Carlson, B. A.; Brown, H. C. *Org. Synth.* **1998**, *6*, 137.
209. Kono, H.; Hooz, J. *Org. Synth.* **1988**, *6*, 919.
210. Leopold, E. *J. Org. Synth.* **1990**, *7*, 258.
211. Barry, M. T.; Robert, N. B.; Jiayi, X. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 3109-3112.
212. Nicolaou, K. C.; Tang, Y.; Wang, J.; Stepan, A. F.; Li, A.; Montero, A. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 14850-14851.
213. Nicolaou, K. C.; Stepan, A. F.; Lister, T.; Li, A.; Montero, A.; Tria, G. S.; Turner, C. I.; Tang, Y.; Wang, J.; Denton, R. M.; Edmonds, D. J. *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 13110-13119.

214. Nicolaou, K. C.; Li, A.; Edmonds, D. J. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 7086-7090.
215. Grubbs, R. H.; Chang, S. *Tetrahedron* **1998**, *54*, 4413-4450.
216. Katz, T. J.; McGinnis, J. J. *Am. Chem. Soc.* **1975**, *97*, 1592-1594.
217. Hérisson, P. J.; Chauvin, Y. *Die Makromolekulare Chemie* **1971**, *141*, 161-176.
218. Smith, A. B.; Adams, C. M.; Kozmin, S. A.; Paone, D. V. *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 5925-5937.
219. Bäckvall, J.-E.; Andreasson, U. *Tetrahedron Lett.* **1993**, *34*, 5459-5462.
220. McGrath, D. V.; Grubbs, R. H. *Organometallics* **1994**, *13*, 224-235.
221. Nakashima, K.; Okamoto, S.; Sono, M.; Tori, M. *Molecules* **2004**, *9*, 541-549.
222. Ghosh, A. K.; Cappiello, J.; Shin, D. *Tetrahedron Lett.* **1998**, *39*, 4651-4654.
223. Fürstner, A.; Langemann, K. *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 9130-9136.
224. Luche, J.-L.; Gemal, A. L. *J. Am. Chem. Soc.* **1979**, *101*, 5848-5849.
225. Katoh, N.; Nakahata, T.; Kuwahara, S. *Tetrahedron* **2008**, *64*, 9073-9077.
226. Kuwahara, S.; Suzuki, K.; Hiramatsu, A. *Biosci. Biotech. Biochem.* **1992**, *56*, 1510-1511.
227. Saito, T.; Nakata, T.; *Org. Lett.* **2009**, *11*, 113-116.
228. Lu, F.; Ralph, J. *J. Agric. Food Chem.*, **1998**, *46*, 1794-1796.
229. Snyder, S. A.; Sherwood, T. C.; Ross, A. G. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, *49*, 1-6.
230. (a) Yardley, J. P.; Fletcher, H. *Synthesis*, **1975**, 244. (b) Coutts, S. J.; Wallace, T. W. *Tetrahedron*, **1994**, *50*, 11755-11780.
231. Ooi, T.; Miki, T.; Taniguchi, M.; Shiraishi, M.; Takeuchi, M.; Maruoka, K. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, *42*, 3796-3798.
232. Levine, S. R.; Krout, M. R.; Stoltz, B. M. *Org. Lett.* **2009**, *11*, 289-292.
233. Poulsen, T. B.; Bernardi, L.; Aleman, J.; Overgaard, J.; Jorgensen, K. A. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 441-449.
234. Mander, L. N.; Sethi, S. P. *Tetrahedron Lett.* **1983**, *24*, 5425-5428.
235. Desmaële, D.; D'angelo, J. *J. Org. Chem.* **1994**, *59*, 2292-2303.
236. Dukkerke, S.; Abbas, M.; Westermann, B. *Belstein J. Org. Chem.* **2011**, *7*, 421-425.
237. (a) Mohr, J. T.; Stoltz, B. M. *Chem. Asian J.* **2007**, *2*, 1476-1491. (b) Weaver, J. D.; Recio III, A.; Grenning, A. J.; Tunge, J. A. *Chem. Rev.* **2011**, *111*, 1846-1913.
238. (a) Tsuji, J.; Minami, I.; Shimizu, I. *Tetrahedron Lett.* **1983**, *24*, 1793-1796. (b) Seto, M. S.; Roizen, J. L.; Stoltz, B. M. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 6873-6876.
239. Tsuji, J.; Minami, I.; Shimizu, I. *Chem. Lett.* **1983**, 1325-1326.
240. (a) Shimizu, I.; Yamada, T.; Tsuji, J. *Tetrahedron Lett.* **1980**, *21*, 3199-3202. (b) Tsuda, T.; Chujo, Y.; Nishi, S. I.; Tawara, K.; Saegusa, T. *J. Am. Chem. Soc.* **1980**, *102*, 6381-6384.
241. Tsuji, J.; Minami, I.; Shimizu, I. *Tetrahedron Lett.* **1983**, *24*, 4713-4714.
242. Burger, E. C.; Tunge, J. A. *Org. Lett.* **2004**, *6*, 4113-4115.
243. (a) Helmchen, G.; Pflatz, A. *Acc. Chem. Res.* **2000**, *33*, 336-345. (b) Williams, J. M. J. *Synlett* **1996**, 705-710.
244. Behenna, D. C.; Stoltz, B. M. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 15044-15045.
245. McDougal, N. Y.; Virgil, S. C.; Stoltz, B. M. *Synlett* **2010**, 1712-1716.
246. (a) Trost, B. M.; Xu, J. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 2846-2847. (b) Trost, B. M.; Xu, J.; Schmidt, T. *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 18343-18357.
247. Trost, B. M.; Xu, J. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 17180-17181.
248. Trost, B. M.; Lehr, K.; Michaelis, D. J.; Xu, J.; Buckl, A. K. *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 8915-8917.
249. (a) Mohr, J. T.; Behenna, D. C.; Harned, A. M.; Stoltz, B. M. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 6924-6927. (b) Mohr, J. T.; Nishimata, T.; Behenna, D. C.; Stoltz, B. M. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 11348-11349.
250. Trost, B. M.; Robert, N. B.; Jiayi, X. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 3109-3112.
251. Trost, B. M.; Schäffner, B.; Osipov, M.; Wilton, D. A. A. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2011**, *50*, 3548-3551.
252. Sherden, N. H.; Behenna, D. C.; Virgil, S. C.; Stoltz, B. M. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 6840-6843.
253. Chattopadhyay, K.; Jana, R.; Day, V. W.; Douglas, J. T.; Tunge, J. A. *Org. Lett.* **2010**, *12*, 3042-3045.
254. (a) Bäckvall, J.-E.; Ruth, E. N.; Vågberg, J. *Tetrahedron Lett.* **1983**, *24*, 411-412. (b) Fiaud, J. C.; Aribi-Zouieueche, L. *Tetrahedron Lett.* **1982**, *23*, 5279-5282. (c) Yan, B. Y.; Spilling, C. D. *J. Org. Chem.* **2008**, *73*, 5385-5396. (d) Tsuda, T.; Okada, M.; Nishi, S.-I.; Saegusa, T. *J. Org. Chem.* **1986**, *51*, 421-426.
255. Keith, J. A.; Behenna, D. C.; Mohr, J. T.; Ma, S.; Marinescu, S. C.; Oxgaard, J.; Stoltz, B. M.; Goddard, W. A. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 11876-11877.
256. Sims, J. J.; Lin, G. H. Y.; Wing, R. M. *Tetrahedron Lett.* **1974**, *15*, 3487-3490.
257. Koning, G. M.; Wright, A. D. *J. Nat. Prod.* **1997**, *60*, 967-970.
258. (a) Vairappan, C. S.; Daitoh, M.; Suzuki, M.; Abe, T.; Masuda, M. *Phytochemistry* **2001**, *58*, 291-297. (b) Martin, J. D.; Pérez, C.; Ravelo, J. L.; *J. Am. Chem. Soc.* **1986**, *108*, 7801-7811.
259. Dias, T.; Brito, I.; Moujir, L.; Paiz, N.; Darias, J.; Cueto, M. J. *J. Nat. Prod.* **2005**, *68*, 1677-1679.
260. White, D. E.; Stewart, I. C.; Seashore-Ludlow, B. A.; Grubbs, R. H.; Stoltz, B. M. *Tetrahedron*, **2010**, *66*, 4668-4686.
261. White, D. E.; Stewart, I. C.; Grubbs, R. H.; Stoltz, B. M. *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 810-811.
262. Bakale, R. P.; Lopez, J. L.; McConville, F. X.; Vandenbossche, C. P.; Senanayake, C. H. *US Patent*, **2000**, 6140529.

263. Trost, B. M.; Stiles, D. T. *Org. Lett.* **2007**, *9*, 2763-2766.
264. Levine, S. R.; Krout, M. R.; Stoltz, B. M. *Org. Lett.* **2009**, *11*, 289-292.
265. Petrova, K. V.; Mohr, J. T.; Stoltz, B. M. *Org. Lett.* **2009**, *11*, 293-295.
266. Stork, G.; Danheiser, R. L. *J. Org. Chem.* **1973**, *38*, 1775-1776.
267. Yamada, C. M.; Dellinger, D. J.; Caruthers, M. H. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 5251-5261.
268. Donnelly, D. M. X.; Finet, J. P.; Rattigan, B. A. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1993**, 1729-1735.
269. Yao, L.; Smith, B. T.; Aubé, J. *J. Org. Chem.* **2004**, *69*, 1720-1722.
270. Yoshioka, M.; Saitosh, M.; Arai, H.; Ichikawa, K.; Hasegawa, T. *Tetrahedron* **1987**, *43*, 5237-5244.
271. Weber, W. M.; Hunsaker, L. A.; Abcouwer, S. F.; Deck, L. M.; Vander Jagt, D. L. *Bioorg. Med. Chem.* **2005**, *13*, 3811-3820.
272. Ukai, T.; Kawazura, H.; Ishii, Y.; Bonnet, J. J.; Ibers, J. A. *J. Organomet. Chem.* **1974**, *65*, 253-266.
273. Rettig, M. F.; Maitlis, P. M.; Cotton, F. A.; Webb, T. R. In *Inorganic Syntheses*; Alan, G. M., Ed. **2007**, 134-137.
274. Pour des revues sur les azotures, voir : (a) Sha, C.-K.; Mohanakrishnan, A. K.; *The chemistry of heterocyclic compounds*, **2002**, *59*, 623-679. (b) Bräse, S.; Gil, C.; Knepper, K.; Zimmermann, V. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 5188-5240.
275. Pour des revues sur les cycloadditions 1,3-dipolaires, voir : (a) Pellissier, H.; *Tetrahedron* **2007**, *63*, 3235-3285. (b) Nair, V.; Suja, T. D. *Tetrahedron* **2007**, *63*, 12247-12275.
276. Pour la formation d'imines : (a) Choi, J. R.; Han, S.; Cha, J. K. *Tetrahedron Lett.* **1991**, *32*, 6469-6472. (b) Schkeryantz, J. M.; Pearson, W. H. *Tetrahedron* **1996**, *52*, 3107-3116.
277. Pour la formation d'aziridine : Ciufolini, M. A.; Chen, M.; Lovett, D. P.; Deaton, M. V. *Tetrahedron Lett.* **1997**, *38*, 4355-4358.
278. Ciufolini, M. A.; Chen, M.; Lovett, D. P.; Deaton, M. V. *Tetrahedron Lett.* **1997**, *38*, 4355-4358.
279. (a) Pearson, W. H.; Schkeryantz, J. M. *J. Org. Chem.* **1992**, *57*, 6783-6789. (b) Taber, D. F.; Dekker, P. B.; Fales, H. M.; Jones, T. H.; Lloyd, H. A. *J. Org. Chem.* **1988**, *53*, 2968-2971.
280. Bennett, R. B.; Choi, J. R.; Montgomery, W. D.; Cha, J. K. *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, *111*, 2580-2582.
281. Pearson, W. H.; Suga, H. *J. Org. Chem.* **1998**, *63*, 9910-9918.
282. Bougrin, K.; Loupy, A.; Soufiaoui, M. *J. Photochem. Photobiol. C Photochem. Rev.* **2005**, *6*, 139-167.
283. Gabriel, C.; Gabriel, S.; Grant, E. H.; Halstead, B. S. J.; Mingos, D. M. P. *Chem. Soc. Rev.* **1998**, *27*, 213-224.
284. (a) Tamaro, P.; Shimomura, K.; Proks, P. *Methods Mol Biol.*, **2008**, *491*, 127-139. (b) Kornreich, B. G. *J. Vet. Cardiol.* **2007**, *9*, 25-37.
285. Duroure, L.; Jousseau, T.; Araoz, R.; Barre, E.; Retailleau, P.; Chabaud, L.; Molgo, J.; Guillou, C. *Org. Biomol. Chem.* **2011**, doi : 10.1039
286. Rettig, M. F.; Maitlis, P. M.; Cotton, F. A.; Webb, T. R. In *Inorganic Syntheses*; Alan, G. M., Ed. **2007**, p 134-137.
287. Burchat, A. F.; Chong, J. M.; Nielsen, N. *Journal of Organometallic Chemistry* **1997**, *542*, 281-283.

Résumé : VERS LA SYNTHÈSE DE LA (-)-GYMNODIMINE A ET ÉTUDES DE RELATIONS STRUCTURE-ACTIVITÉ DU COEUR SPIROIMINE

Les gymnodimines, les spirolides, les pinnatoxines et les pteriatoxines constituent une famille de toxines d'origine marine de structures complexes, produites en faibles quantités par des microorganismes marins appelés dinoflagellés. Ces toxines sont connues pour bloquer les récepteurs nicotiniques de l'acétylcholine (nAChRs) sans que leurs modes d'action ne soient connus avec précision. D'après les différents tests biologiques réalisés à ce jour, il semblerait que le motif spiroimine, commun à toutes ces molécules, soit le pharmacophore principal, indispensable pour toute activité antagoniste.

Le travail réalisé au cours de cette thèse s'est focalisé sur la synthèse du fragment spiroimine de la (-)-gymnodimine A (GYM A), dans l'optique d'une étude pharmacologique de ces structures. Dans un premier temps, la création du centre quaternaire a été réalisée en utilisant la réaction Tsuji-Trost qui nous a donné de bons résultats en termes de rendement et d'excès énantiomérique. Au cours d'une approche sur des substrats modèles, une stratégie de fonctionnalisation originale de la chaîne allylique, mettant en jeu une métathèse croisée puis une oxydation, nous a permis d'atteindre l'intermédiaire spirolactone désiré. Après quelques étapes d'aménagements fonctionnels, une réaction de Staudinger nous a permis d'isoler les spiroimines attendues. Dans la perspective d'une future synthèse totale, la réaction de Tsuji-Trost a été appliquée à des substrats plus fonctionnalisés.

Dans un second temps, une allylation décarboxylante asymétrique à partir de β -cétoesters, nous a aussi permis de former le centre stéréogénique avec de bons rendements et excès énantiomériques. Une séquence rapide et efficace a été mise au point pour la synthèse de motifs spiroimines. Après une étape d'isomérisation, les composés ont été engagés dans une réaction de cycloaddition-1,3 dipolaire entre un alcène et une fonction azoture pour former les spiroimines souhaitées. La généralisation de la méthode a alors été entreprise.

Les trois spiroimines synthétisées au cours de ces travaux ont été évaluées biologiquement sur les nAChRs, montrant un effet antagoniste, voire bloquant de ces récepteurs. Leurs structures sont beaucoup plus simples que celle de la GYM A et l'activité biologique est plus faible que la molécule naturelle. Toutefois, ces résultats montrent bien que le motif spiroimine est l'un des pharmacophores de la GYM A.

Mots-clés : *gymnodimine, spiroimine, toxine marine, produit naturel, récepteurs nicotiniques, synthèse asymétrique, catalyse, palladium, réaction de Tsuji-Trost, allylation décarboxylante asymétrique, cycloaddition.*

Abstract : TOWARD THE TOTAL SYNTHESIS OF THE (-)-GYMNODIMINE A AND STRUCTURE-ACTIVITY RELATIONSHIP OF THE SPIROIMINE MOIETY

Gymnodimines, spirolides, pinnatoxines and pteriatoxines constitute a family of marine toxins with complex structures. They are produced in small quantities by marine microorganisms called dinoflagellates. These toxins are known to block the nicotinic acetylcholine receptors (nAChR), but the exact mode of action remains to be determined. Biological tests have showed that the spiroimine moiety, the common feature of these molecules, is the main pharmacophore, essential for the antagonist activity.

This Ph.D. work has been focused on the synthesis of the spiroimine fragment of the (-)-gymnodimine A (GYM A), for the pharmacological studies of these structures. In the first part, the formation of the quaternary carbon was developed using the Tsuji-Trost reaction. Good yield and enantiomeric excess were obtained. During our work with model substrate, an original approach was used to functionalize the allyl chain. We realized a cross metathesis followed by an oxidative cleavage to form an aldehyde used to synthesize the key spirolactone. After further elaboration, a Staudinger cyclisation has been used to isolate the desired spiroimines. Then, Tsuji-Trost reaction was applied to more functionalized substrates that could be used for the total synthesis of GYM A.

In a second time, an asymmetric decarboxylative allylation from β -ketoesters, was used to form the stereogenic center with good yield and enantiomeric excess. A short synthetic route was developed for the synthesis of the spiroimine moiety. After isomerisation of the allylic chain, the compounds were involved in a 1,3-cycloaddition between an alkene and an azide to form the spiroimines. The generalization of the method was then investigated.

Three spiroimines were synthesized and their biological activity evaluated on nAChRs. Although these molecules have a simpler structure than GYM A, they show an antagonist or a blocking effect on nAChRs. Their biological activities were lower than the natural product but these results showed that the spiroimine moiety is one of the pharmacophore of the GYM A.

Keywords : *gymnodimine, spiroimine, marine toxin, natural product, nicotinic receptor, asymmetric synthesis, catalysis, palladium, Tsuji-Trost reaction, asymmetric decarboxylative allylation, cycloaddition.*